UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

1952-1953. — N° 368

Réactions immunologiques en helminthologie

Leur application au diagnostic de l'échinococcose

Travail effectué au Laboratoire de Sérologie
de la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux
Professeur : P. JOULIA

THESE POUR LE DOCTORAT EN PHARMACIE (Université)

Présentée et soutenue publiquement le 6 Février 1953

PAR

Thérèse GOSMAN

PHARMACIEN

Née à CALAIS le 25 Octobre 1927

MEMBRES DU JURY :

MM. SIGALAS, Professeur ..... Président
CASTAGNOU, Professeur ..... Juge
TAYEAU, Professeur ..... »
PAUTRIZEL, Maître de Conférences, Agrégé »

PARIS
MAURICE LAVERGNE, IMPRIMEUR
289, RUE SAINT-JACQUES

1956

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

1952-1953. — N° 368

Réactions immunologiques en helminthologie

Leur application au diagnostic de l'échinococcose

Travail effectué au Laboratoire de Sérologie
de la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux
Professeur : P. JOULIA

THESE POUR LE DOCTORAT EN PHARMACIE (*Université*)

Présentée et soutenue publiquement le 6 Février 1953

PAR

Thérèse GOSMAN

PHARMACIEN

Née à CALAIS le 25 Octobre 1927

MEMBRES DU JURY :

MM. SIGALAS, Professeur	Président
CASTAGNOU, Professeur	Juge
TAYEAU, Professeur	»
PAUTRIZEL, Maître de Conférences, Agrégé	»

PARIS
MAURICE LAVERGNE, IMPRIMEUR
289, RUE SAINT-JACQUES

1956

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

Doyens Honoraires: MM. Dupérié, Chelle, G. Portmann
Doyen: M. Sigalas. — **Assesseur:** M. Tayeau

Professeurs Honoraires :

MM. A. Mandoul, Anderodias, Rocher, Lande, Duvergey, Carles, Leuret, Péry, Charrier, Dubreuil, Cruchet, Perrens

Professeurs :

	MM.
Clinique médicale	N
»	BROUSTET.
Clinique chirurgicale	PAPIN.
»	MASSE.
Clinique d'accouchements	P. RIVIERE.
Clinique gynécologique	MAGENDIE.
Anatomie pathologique et microscopie clinique	DE GRAILLY.
Anatomie	DUFOUR.
Anatomie générale et histologie	MAYER.
Hygiène et Clinique de la tuberculose	PIECHAUD.
Médecine légale et médecine du travail	DERVILLE.
Electroradiologie et clinique d'électricité médicale	REBOUL.
Chimie	MESNARD.
Matière médicale	J. GOLSE.
Pharmacie	VITTE
Physiologie	FABRE.
Clinique médicale des maladies des enfants	FONTAN.
Zoologie et parasitologie	SIGALAS.
Pathologie générale et expérimentale	SARIC.
Clinique ophtalmologique	N.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	POUYANNE.
Clinique médicale et des maladies infectieuses	AUBERTIN.
Chimie biologique et médicale	TAYEAU.
Physique médicale et pharmaceutique	PIFFAULT.
Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques	BONNIN.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JOULIA.
Clinique des maladies des voies urinaires	DARGET.
Clinique des maladies nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Clinique d'oto-rhino-laryngol.	G. PORTMANN.
Toxicologie et hygiène appliquée	CASTAGNE.
Clinique odonto-stomatologiq.	DUBECQ.
Botanique et cryptogamie	GIRARD.
Thérapeutique	P.J. TRAIN.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	DUBARRY.

Professeur à titre personnel :

M. BLANQUET (Section Pharmacie)

Professeurs sans chaire :

MM. MAHON (Obstétrique), PAUTRIZEL (Parasitologie), Mlle ROUGIER (Physiologie), M. MOUSTARDIER (Bactériologie)

Maîtres de Conférences Agrégés :

	MM.
Anatomie pathologique	JEGER.
Anatomie	RIGAUD.
»	CABANIE.
Biochimie médicale	NEUZIL.
Pathologie expérimentale	FAURE.
Physique médicale	DUHAMEL.
Pharmacie (1re Section)	R. GOLSE.
»	ROMAIN.
Pharmacie (2e Section)	MASQUELIER.
»	QUELCHID.
Pharmacie (3e Section)	CAZAUX.

Chargé des fonctions de Maître de Conférences Agrégé :

M. STOLL (Histologie)

Agrégés en exercice :

	MM.		MM.
Médecine générale	BERGOUIGNAN	Obstétrique	CHASTRUSSE.
»	LENG-LEVY	»	FAUGERE
»	MORETTI	Ophtalmologie	BESSIERE
»	LAVIGNOLLE	»	CORCELLE
»	MARTIN-DUPONT.	Oto-rhino-laryngologie	DESPONS
»	DAVID-CHAUSSE	»	M. PORTMANN
»	J RIVIERE	Dermatologie et syphiligraph.	LE COULANT
		Pédiatrie et puériculture	VERGER
		Médecine légale et médecine du travail	I EPEE
Chirurgie générale	LAUMONIER	Electro-radiologie	LACHAPELE
»	CHAVANNAZ	Odonto-stomatologie	BENOIT
»	VILLAR.	Urologie	LANGE
»	TINGAUD	Neurologie et psychiatrie	BLANC
»	DEPAULIS	Pneumo-phtisiologie	FREOUB
»	DARMAILLACQ.		

Cours complémentaires :

	MM.		MM.
Médecine opératoire	LAUMONIER	Zoologie pharmaceutique	BAILENGER
Accouchements	CHASTRUSSE	Physiologie	BENELLI
»	FAUGERE	Toxicologie et Hygiène	Mlle LARCEBAU.
Puériculture	VERGER	Phytopharmacie	CORTESI
»	PERY	Droit médical international	AUBY
Législation pharmaceutique	COUSTOU	Médecine légale	I EPEE
Cryptogamie	LAUBIE	Séméiologie médicale	LAVIGNOLLE
Obstétricie sociale	MAHON	Séméiologie chirurgicale	DEPAULIS
Organographie et physiologie végétale	TEMPERE	Embryologie	STOLL
Chimie biologique analytique	MARQUEVIELLE	Pathologie médicale	BERGOUIGNAN
Chimie analytique	BABIN	»	LEVY
Pathologie chirurgicale	VILLAR	»	MORETTI
»	CHAVANNAZ	»	DAVID-CHAUSSE
»	TINGAUD	»	RIVIERE
»	DARMAILLACQ	»	MARTIN-DUPONT
»	LAPORTE		

Le Secrétaire principal de la Faculté : GAYRAUD

Par délibération du 5 Août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation, ni improbation.

R.UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MES PARENTS

Je dédie ce modeste travail avec toute mon affection.

A MON FIANCÉ

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur R. SIGALAS

Professeur de Zoologie et de Parasitologie
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux
Directeur honoraire de la Station Biologique d'Arcachon
Chevalier de la Légion d'Honneur
Croix de Guerre
Officier de l'Instruction Publique

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude. Sa bienveillance à notre égard, tout au long de ce travail, nous a vivement touchée.

A NOS JUGES

Monsieur le Docteur R. PAUTRIZEL

Maître de Conférences Agrégé
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux
Docteur ès Sciences
Chef de Laboratoire au Centre de Prophylaxie antivénérienne
Croix de Guerre
Officier d'Académie
Médecin Délégué à l'Office Mondial de la Santé

Qui nous a inspiré le sujet de cette thèse. Nous avons trouvé en lui un Maître compréhensif et qui, pour nous guider, n'a jamais ménagé ni son temps ni sa peine.

Il nous est agréable de lui exprimer ici, bien imparfaitement, notre profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur F. TAYEAU

Professeur de Chimie Biologique et Médicale
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux
Docteur ès Sciences
Officier d'Académie

Qui nous a toujours accueillie avec bienveillance dans son laboratoire et dont les conseils prodigués avec la plus grande amabilité nous ont été précieux.

Nous l'en remercions bien vivement et c'est avec un plaisir immense que nous le comptons aujourd'hui parmi nos juges.

Monsieur le Professeur CASTAGNOU

Professeur de Toxicologie et Hygiène Appliquée
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux
Pharmacien des Hôpitaux Psychiatriques

Dont nous avons toujours suivi l'enseignement avec le plus grand intérêt, a bien voulu nous faire l'honneur de siéger dans notre jury de thèse.

Qu'il veuille bien accepter nos plus vifs remerciements.

AVANT-PROPOS

Il nous est très agréable, avant de présenter ce travail, de remercier toutes les personnes qui ont contribué, à des titres divers, à la réalisation de cette thèse.

Nous les prions de trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

INTRODUCTION

En parcourant l'abondante littérature qu'ont suscitée les diagnostics immunologiques d'helminthiases en général et d'échinococcose en particulier, le lecteur est frappé par le fait que, si de nombreuses méthodes présentent un intérêt réel, aucune n'est absolument satisfaisante, puisque la plupart des auteurs sont d'accord pour exiger toujours plusieurs techniques avant d'oser poser un diagnostic.

Réactions sérologiques et réactions allergiques ont été préconisées tour à tour. On a voulu les opposer comme si elles n'étaient pas toutes des réactions spécifiques antigène-anticorps.

Par contre, le plus souvent, la discrimination n'a pas été faite entre une réaction aspécifique telle que l'hyperéosinophilie, que certains ont prise pour témoin de l'échinococcose, et les réactions spécifiques données par tout immunserum avec l'antigène correspondant, et dans le cadre desquelles entrent ensemble réactions sérologiques telles que fixation du complément ou précipitation, et réactions allergiques dont le test de Casoni est le type.

Après une étude de ces techniques et des rai-

sons de leurs échecs, nous allons voir si un remède peut être apporté, et essayer de mettre au point, en faisant appel à la sérologie et à l'allergie, une méthode permettant de poser avec le maximum de sécurité le diagnostic immunologique d'helminthiase et plus particulièrement d'échinococcose.

Chapitre Premier

HISTORIQUE

Dans le domaine de l'échinococcose, après les premiers travaux de Ghedini (25) en 1906 et Weinberg (62) en 1907 pour mettre au point une réaction de fixation du complément, ceux de Fleig et Lisbonne pour essayer une précipitoréaction et ceux de Casoni (11) relatifs aux tests cutanés, les auteurs ont discuté et ne sont pas tous tombés d'accord sur le crédit qu'il fallait ajouter aux résultats donnés par ces techniques.

C'est ainsi qu'en 1925 Fernandez et Ithurrat (20) estimaient qu'avant de poser un diagnostic, il fallait pratiquer quatre épreuves : la fixation du complément, la réaction au sérum frais, la numération des éosinophiles et l'intradermoréaction.

On a voulu en effet faire jouer un rôle prépondérant à l'éosinophilie dans le diagnostic des helminthiases. C'est Sabrazes (54) qui constate le premier la présence de polynucléaires éosinophiles dans un liquide louche de kyste hydatique. Ils joueraient un rôle dans la résorption des substances toxiques sécrétées par le parasite, et augmentent après la rupture du kyste. Derobert (13) cite l'expérience de Weinberg selon laquelle un liquide hydatique

additionné d'éosinophiles perd son pouvoir antigénique, tandis que l'eau de lavage de ces mêmes éosinophiles, après cette première expérience, donne au contraire une réaction positive.

Fisahn (21) montre que l'intradermoréaction provoque un afflux local de polynucléaires éosinophiles. Pautrizel (45 b) a prouvé qu'ils étaient formés sur place. Manassei (39) ajoute comme moyen de diagnostic complémentaire à la réaction de Casoni la recherche de l'éosinophilie sanguine provoquée par les injections de liquide hydatique. Il constate qu'il y a une augmentation de 1,5 à 6 % dans une période variant de 24 à 48 heures après l'injection. Nous verrons d'après nos observations quelle interprétation donner à ces faits.

Servantie (57), en 1923, n'accorde aucune valeur à l'éosinophilie ni à la précipitoréaction. Il trouve 17 % d'erreurs avec la fixation du complément. Sa faveur va encore à l'intradermoréaction, bien que d'après lui la suppuration du kyste ou l'existence d'un état anaphylactique puisse en fausser le résultat.

Simantiris (59), en 1927, se montre encore plus exigeant que Fernandez et Ithurrat. En effet, d'après lui, pour obtenir toute satisfaction, il faudrait faire une réaction de fixation du complément, une précipitoréaction, une formule leucocytaire, une cutiréaction de Casoni, et une sous-cutiréaction de Pontano. Il reconnaît, avec Sabrazes, que l'éosinophilie est inconstante et non spécifique.

Burnet, Caillon et Brun (7), en 1927, sont les plus pessimistes. Ils ne se fient ni à l'éosinophilie, ni à la précipitoréaction, ni à l'intradermoréaction, ni à la fixation du complément, bien que d'après eux, ce procédé soit encore le moins mauvais et mérite d'être mis à l'étude.

Outeirino et Nunez (44), en 1935, reprochent à la réaction de Weinberg et à celle de Casoni de n'être pas spécifiques.

De leur côté, Morenas (41 a) en 1932, Nunez et Lopez (43) en 1933, Chung et Tung (11 bis) en 1939, Brisou (6 bis) en 1945, et Pautrizel (46 a) en 1948, sont tous d'accord pour reconnaître que des antigènes à base de différents ténias sont capables de donner des réactions intradermiques chez des malades atteints d'échinococcose, absolument comparables à celles obtenues avec l'antigène hydatique.

D'après Urbain (61), la réaction de fixation du complément serait toujours négative chez des animaux sains, mais manquerait parfois chez des animaux porteurs de kystes. Il utilisait pourtant pour antigène un liquide hydatique de mouton, titré vis-à-vis d'animaux hyperimmunisés.

Sarreau (55), en 1947, rejette l'éosinophilie sanguine et la réaction de fixation du complément qu'il juge trop inconstantes pour être d'une utilité pratique. Il accorde un peu plus de crédit à la précipitoréaction modifiée par Trawinski (60), mais considère que seule l'intradermoréaction offre des garanties suffisantes. Il conseille même d'utiliser un antigène fractionné pour s'assurer une plus grande spécificité.

Russo (53), en 1939, signale qu'en dehors de toute helminthiase, il existe un état allergique (urticaire, asthme, tuberculose, syphilis) susceptible de donner une réaction de Casoni faussement positive, ce qui confirmait d'ailleurs les observations de Morenas et Lagrèze (42) en 1930.

Eristavi (16), en 1929, prétend même avoir été incapable de déceler des anticorps spécifiques

dans le sérum d'animaux atteints d'hydatidose. Bonelli (4) était de son avis en 1934.

Enfin, pour une même réaction : la fixation du complément, les auteurs obtiennent des résultats qui ne sont même pas comparables. Joyeux (32) signale 17 % de réponses justes pour Lemaire, tandis que Fairley en trouve 84 %, et Hoder tout à fait optimiste 90 %.

Goodale et Krischner (26) obtiennent 60 % de résultats heureux contre 17 % de réactions faussement positives.

Bref, ces méthodes sont loin, on le voit, de donner toute satisfaction, et si les réactions de Weinberg et de Casoni sont utilisées encore aujourd'hui à défaut d'autres, nous voyons qu'elles ont fait l'objet de nombreuses critiques.

Quelles sont donc ces méthodes utilisées dans le diagnostic immunologique de l'échinococcose, et les raisons des échecs qu'on leur attribue ?

Causes d'erreur dans les réactions utilisées en vue du diagnostic immunologique d'échinococcose

I. — *Eosinophilie*

Il est de fait que bien souvent un malade atteint d'échinococcose présente une éosinophilie relative. Mais vouloir attribuer à ce phénomène une valeur diagnostique semble bien illusoire.

On a beaucoup discuté sur la signification de l'éosinophilie sanguine, et la littérature sur ce sujet est très abondante.

D'abord, l'éosinophilie générale de l'échinococcose n'est qu'un cas particulier de l'éosinophilie des helminthiases. Donc, si elle existe, elle ne permet pas de conclure à une hydatidose.

D'autre part on sait, et Lavier (34) l'a montré nettement, que dans les helminthiases, l'hyperéosinophilie, d'abord très légère, ou même nulle dans les premiers jours de l'infestation, monte assez rapidement et atteint un plateau où elle reste stationnaire pour décroître ensuite progressivement. Au bout d'un certain temps, s'il n'y a pas eu réinfestation, le nombre des polynucléaires éosinophiles dans le sang circulant peut revenir presque à la normale. Si on fait alors la formule leucocytaire à ce moment, on risquera d'éliminer à tort l'hypothèse d'un kyste hydatique.

Ceci suffit à expliquer les grandes divergences dans les opinions des auteurs sur la valeur diagnostique de l'éosinophilie hydatique.

2. — *Précipitoréaction*

Elle n'est plus guère utilisée et ne semble pas avoir donné de brillants résultats. Peut-être est-ce faute d'une technique correcte, et c'est regrettable car elle est très simple et pourrait, de ce fait, rendre de grands services en pratique courante.

Les premiers essais heureux furent faits en 1907 par Fleig et Lisbonne (22). Ils utilisaient une méthode très simple. Voici en effet quelle était leur technique : ils versaient une dizaine de gouttes de sérum suspect sur un centicube de liquide hydatique, et après mélange des deux liquides portaient à l'étuve entre 40 et 50°. Ils faisaient un témoin négatif avec le sérum d'un individu nor-

mal. Un précipité floconneux caractéristique signait une réaction positive en 7 à 10 heures.

Welsch et Chapman (64), en 1908, ont des résultats encore plus encourageants.

Certains auteurs anglais conseillent de filtrer le liquide hydatique sur bougie et d'en utiliser deux fois plus.

D'autres évitent le phénomène de zone en employant, pour une quantité fixe de sérum, des quantités variables d'antigène.

Tous semblaient satisfaits de leurs résultats. Mais par la suite, on reprocha à cette réaction d'être inconstante ; elle serait souvent positive chez des sujets sains. C'est du moins ce qu'affirmait Weinberg en 1907.

Burnet, Caillon et Brun (8) en 1927, n'ont pas réussi à mettre en évidence d'anticorps précipitants chez des sujets porteurs de kystes hydatiques, pas plus que chez des sujets indemnes d'ailleurs.

Seuls, Lemaire et Thiodet (36) à Alger, en 1926, obtiennent des résultats à peu près concordants avec la réaction de fixation du complément de Weinberg..

Mais ce test fut pratiquement abandonné jusqu'en 1946, où, à la suite des travaux de Trawinski (60), il retrouva un peu de faveur. Cet auteur donne une méthode personnelle dans laquelle il utilise un antigène à base de scolex desséchés. Sa technique, très simple, consiste à faire arriver tout doucement le sérum suspect sous une couche d'antigène, sans mélanger les deux liquides. Dans le cas de réaction positive, après un séjour de trente minutes à 37°, il obtient à la surface de contact du sérum et de l'antigène, un anneau bleuâtre caractéristique.

Cette réaction est-elle spécifique ? Trawinski

ne l'a pas prouvé, et il reconnaît lui-même qu'elle est de lecture très délicate.

De tous ces travaux, il ressort qu'une technique de précipitation reste encore à découvrir, pour poser avec certitude le diagnostic immunologique d'échinococcose.

3. — *Fixation du complément*

C'est Ghedini (25) qui, en 1926, a eu le mérite d'appliquer le premier le principe de la réaction de Bordet-Gengou pour déceler une hydatidose. Weinberg, deux ans plus tard, vulgarisa la technique qui porte son nom, et que voici :

Il y a deux réactions, une au sérum frais et une au sérum chauffé.

A) RÉACTION AU SÉRUM FRAIS

a) *Réaction proprement dite.*

	1) 1 h. étuve 37°			2) 30' étuve 37°	
Tubes n°	sérum frais	Ag	eau phy.	Globules rouges mouton 5 %	
1 1'	0,1	0,1	0,2	dans 1 : 0,1	dans 1' : 0,2
2 2'	0,1	0,2	0,1	2 : 0,1	2 : 0,2
TS TS'	0,1	—	0,3	3 : 0,1	3 : 0,2

La réaction se pratique sur deux séries de trois

tubes, avec, dans chacune des deux séries, des quantités différentes d'hématies de mouton.

On effectue en même temps ce qu'on appelle l'index hémolytique, pour évaluer de façon approximative le pouvoir hémolytique naturel du sérum à tester.

b) *Index hémolytique.*

Tubes n°	Sérum à tester	Glob. rouges 5 %	Eau phy.
1	0,1	0,1	1
2	0,1	0,2	0,9
3	0,1	0,3	0,8
4	0,1	0,4	0,7
5	0,1	0,5	0,6
6	0,1	0,6	0,5
7	0,1	0,7	0,4
8	0,1	0,8	0,3
9	0,1	0,9	0,2
10	0,1	1	0,1

On lit après un séjour d'une heure à l'étuve à 37°.

« Si la teneur en hémolysines est faible, c'est-à-dire si 0,1 cc. de sérum hémolyse une quantité de globules inférieure à 0,5 cc., on ne tient compte que des résultats donnés par la première rangée de tubes. »

Causes d'erreur

C'est une réaction au sérum frais, à laquelle on peut faire exactement les mêmes reproches qu'à la réaction de Hecht dans le sérodiagnostic de la syphilis. On part d'une quantité de complément et d'hémolysines absolument arbitraire, puisque ce sont les pouvoirs alexique et hémolytique naturels du sérum à tester qui sont mis à profit. Si donc le sérum est anti-complémentaire ou pauvre en complément, de par sa nature ou parce qu'il n'est pas absolument frais, ou encore s'il est trop peu riche en hémolysines, la réaction sera pratiquement impossible car il n'y aura jamais hémolyse, même avec un sérum parfaitement négatif.

b) réaction au sérum chauffé

Cette fois, le sérum subit un chauffage d'une demi-heure à 56°, qui a pour but de le décomplémenter et de détruire ses hémolysines naturelles. On ajoute ensuite le complément et le sérum hémolytique en quantités connues.

Le système hémolytique employé dans la réaction est constitué par des globules rouges de mouton, et un sérum hémolytique de lapin anti-mouton. On sensibilise les hématies préalablement en ajoutant à la dilution 1/20 la quantité de sérum hémolytique suffisante pour produire une hémolyse rapide, et on complète avec la quantité d'alexine indiquée.

	1) 1 heure, étuve 37°				2) 30' étuve 37°
Tubes N°	Sérum chauffé	Ag. hydat.	Eau phy.	Alexine 1/2	Globules rouges sensibilisés
1	0,3	0,2	1,1	0,1	1 cc.
2	0,3	0,3	1,3	0,1	1 cc.
3	0,3	0,4	1,2	0,1	1 cc.
T. sérum	0,3	—	1,6	0,1	1 cc.
T. Ag. 1	—	0,4	1,5	0,1	1 cc.
T. Ag. 2	—	0,6	1,3	0,1	1 cc.
T. Ag. 3	—	0,8	1,1	0,1	1 cc.
T. alexine	—	—	1,9	0,1	1 cc.

« On double les doses d'antigène (0,4, 0,6 et 0,8) pour les tubes témoins antigènes, afin d'être certain d'éliminer le pouvoir anticomplémentaire. »

Inconvénients

Il n'y a pas de titrage du complément qui est ajouté arbitrairement, sans évaluation du pouvoir anticomplémentaire éventuel de l'antigène.

D'autre part, il n'y a pas les mêmes doses de complément dans les tubes à réaction et dans les témoins antigène. En cas de pouvoir anticomplémentaire de cet élément, il pourra y avoir absence d'hémolyse dans les tubes à réaction, avec des témoins hémolysés, et on risquera de conclure à tort à une réaction positive.

Enfin, il n'y a pas de titrage rigoureux du système hémolytique, ni de l'antigène.

D'après l'auteur, « les réactions positives faibles ne sont à retenir que si l'on a obtenu une réaction franchement positive avec le sérum non chauffé. Si les résultats des deux réactions sont complètement opposés, il vaut mieux conclure dans le sens négatif, à moins qu'on ait des résultats différents avec un autre antigène ».

Il n'est donc pas étonnant que cette méthode donne parfois des résultats erronés, et qu'elle ait suscité tant de critiques parmi les auteurs qui l'ont utilisée.

C'est ce qui nous a poussé à essayer de mettre au point une technique rationnelle en mettant à profit les progrès de la sérologie moderne, et en faisant une fixation lente avec un antigène, un sérum hémolytique, et un complément titrés.

Chapitre II

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

Mise en évidence des anticorps dans le sérum sanguin

A) *Eléments de la réaction*

1) les anticorps.

Chacun sait depuis longtemps que l'introduction dans un organisme de substances à propriétés antigéniques entraîne par réaction, après un délai plus ou moins long, la formation d'anticorps dans le sérum de l'individu ou de l'animal d'expérience.

Pour pouvoir nous procurer facilement les sérums dont nous avions besoin, nous nous sommes adressée à des animaux que nous avons hyper-immunisés.

C'est au lapin que nous avons fait appel. C'est en effet un excellent producteur d'anticorps. Il présente de plus une grande résistance à l'infection, il est moins onéreux et d'un maniement plus facile que le mouton ou le cheval. Il permet enfin des prises de sang plus importantes que le cobaye.

Principe de la sensibilisation.

On fait une première série d'injections préparantes à l'aide de l'antigène correspondant. Comme l'organisme du lapin demande au moins dix à douze jours pour élaborer des anticorps, on peut se permettre de faire trois ou quatre injections à quelques jours d'intervalle en ne désensibilisant pas, sans risque de provoquer un choc anaphylactique. On laisse au repos pendant quelques jours.

En effet, pendant une période de latence plus ou moins longue selon les individus, il n'y a aucune production d'anticorps. Pour certains auteurs il y aurait déjà une production mais en quantité trop faible pour être décelée par les techniques courantes. (Par viscosimétrie pourtant, Loiseleur, à la suite des travaux de Lecomte du Nouy, a réussi à mettre en évidence des anticorps dès les premiers jours de l'infestation.)

Puis le taux des anticorps monte assez rapidement, c'est alors la période d'augment, qui est suivie d'une période de stabilisation pendant laquelle les anticorps se maintiennent à un taux à peu près constant. C'est ensuite le décrément. Les anticorps alors décroissent progressivement, moins brusquement cependant qu'ils n'étaient apparus.

Pendant le temps de latence, il peut sans danger y avoir un nouvel apport d'antigène dans l'organisme.

Dès l'apparition des anticorps, il y a risque de choc anaphylactique car un petit apport d'antigène provoque alors une brusque montée du taux des anticorps. Ceci est mis à profit dans la période de décrément, pour obtenir des sérums ayant un

taux très élevé en anticorps car c'est à cette période que ce phénomène est le plus net.

En effet, dès le début de la période du décrément, c'est-à-dire, chez le lapin, environ trois semaines après la première injection préparante, on fait ce qu'on appelle une injection de rappel en se mettant à l'abri du choc anaphylactique par une injection préalable d'un anti-histaminique, ou une désensibilisation selon la technique de Besredka.

En pratique, nous avons fait à quatre reprises à deux jours d'intervalle, une injection intraveineuse de 5 cc. de l'extrait vermineux, centrifugé à 4.000 tours par seconde, de façon à éviter qu'il ne subsiste de petites parcelles de parasite. On sait en effet que ces fragments seraient choquants pour l'organisme et nuiraient à la production des anticorps. Au cas où il y aurait dans ces parcelles mal dissoutes, une fraction particulièrement antigénique, les lapins recevaient par voie intrapéritonéale le même antigène non centrifugé et additionné des culots de centrifugation précédents.

Trois semaines plus tard, les animaux recevaient l'injection déchaînante sous anti-histaminique. Nous n'avons jamais eu d'accident en employant par voie intramusculaire le 3277 RP à raison de 10 mmg par kilogramme d'animal, et en associant une petite désensibilisation du type Besredka. Pour cela, nous injections dans le muscle, en même temps que l'anti-histaminique, une très faible quantité d'antigène, soit 2 cc. d'une dilution 1/1.000 environ. Une seule injection désensibilisante a toujours suffi.

Les 4e, 6e et 8e jours, après la dernière injection de rappel, les lapins étaient ponctionnés à la veine marginale de l'oreille. Ils ont toujours sup-

porté parfaitement des saignées de 30 cc trois fois de suite à deux jours d'intervalle.

Cette technique a servi à sensibiliser des lapins avec les antigènes dont nous allons maintenant voir la préparation.

II) LES ANTIGÈNES.

Les différents auteurs ne sont pas tous tombés d'accord sur le choix des antigènes pour poser le diagnostic de l'échinococcose.

Ghedini (25) a tout d'abord utilisé le liquide hydatique retiré du kyste que portait un enfant, pour mettre en évidence la présence d'anticorps dans le sérum de son malade. Cantini (10), en 1929, préconisait aussi le liquide hydatique humain.

Weinberg et Parvu (63) donnaient la préférence au liquide ovin ou bovin.

Blumenthal (2) conseillait de phéniquer l'antigène, et Rabinivitch utilisait un extrait de membranes proligères additionné de phénol, à raison de 0,5 %.

Patterson et Williams (45) se sont adressés aux scolex dont ils ont préparé un extrait alcoolique.

Dennis (12) a une méthode personnelle pour préparer un antigène stable à partir du liquide hydatique : il précipite par addition d'acide trichloroacétique, lave à l'eau distillée et dissout par une base faible. Il reprécipite par addition d'acide trichloracétique. Le précipité, lavé et séché, est prêt pour l'usage. On le dissout au moment de l'emploi dans 1.000 parties d'eau physiologique alcaline, ce qui donne une concentration comparable à celle du liquide hydatique. Il utilise cet antigène pour les réactions de précipitation, de

fixation du complément, et pour les tests cutanés.

Pour Zontschew (66), un extrait alcoolique de liquide hydatique ne serait pas spécifique.

Fairley et Williams (19) ont utilisé un ultrafiltrat de liquide hydatique. Leurs filtrats d'extraits de membranes proligères leur ont donné satisfaction pour les tests cutanés, mais les réactions de fixation du complément étaient faibles avec cet antigène.

De notre côté, nous avons utilisé d'une part le liquide hydatique de porc et d'autre part un extrait total en eau physiologique de membranes proligères.

Préparation des antigènes hydatiques

Les kystes, recueillis à l'abattoir au niveau des foies de porcs parasités, étaient soigneusement détachés. Le liquide hydatique était ponctionné à la seringue, une fois nettoyée la paroi du kyste. Seuls étaient conservés les liquides parfaitement limpides et incolores.

Après centrifugation rapide pour éliminer les scolex, ces liquides étaient essayés sur un sérum de lapin sensibilisé, et conservés à l'armoire frigorifique, ou répartis en ampoules stériles après filtration sur filtre Seitz, selon les besoins.

Les membranes proligères avec les scolex étaient ensuite recueillies par incision du kyste et en évitant soigneusement tout contact avec les débris de foie de porc qui risqueraient d'apporter des protéines étrangères à la larve de ténia.

Ces membranes étaient congelées en armoire frigorifique à — 25°. Elles étaient alors pilées énergiquement dans un mortier puis recongelées et

broyées à nouveau trois fois de suite, de façon à obtenir une purée très fine. Ce broyat était épuisé à l'eau physiologique par agitation de deux heures dans un appareil à secousses, le tout en chambre froide pour éviter un échauffement qui risquerait de détruire les fractions antigéniques.

Les rares débris cellulaires étaient éliminés par plusieurs centrifugations rapides à 4.000 tours par minute, entrecoupées de séjours à l'armoire frigorifique. Nous avons vu que les culots de centrifugation étaient récupérés pour être injectés aux lapins par voie intrapéritonéale.

Le liquide surnageant est conservé à — 25°. Au moment de l'emploi, on le décongèle brusquement au bain-marie à 37°.

B) *Essais de Techniques. Fixation du complément*

Nous avons tout d'abord essayé de mettre au point une technique correcte de fixation du complément en appliquant dans le domaine de l'échinococcose les progrès de la sérologie moderne : fixation lente en chambre froide, titrage de l'antigène, titrage du sérum hémolytique et titrage du complément.

Nous avons cherché à éliminer les causes d'erreur provenant des quantités arbitraires de complément et d'hémolysines mises en œuvre dans la réaction. Pour cela, nous opérons sur un sérum décomplémenté par un chauffage d'une demi-heure au bain-marie à 56°, et nous ajoutons une quantité fixe de sérum de cheval anti-hématies de mouton.

Nous procédons alors à un titrage du complément en présence de cette quantité d'hémolysines et en présence de la quantité d'antigène utilisée

dans la réaction, de façon à tenir compte de son pouvoir anti-complémentaire.

Ayant ainsi déterminé la dose de complément nécessaire à la lyse des hématies de mouton, on utilise dans la réaction deux fois plus de complément pour ne pas risquer de trouver de fausses réactions positives, et pour se mettre à l'abri d'un pouvoir anticomplémentaire éventuel du sérum à tester.

Enfin après différents essais, nous avons adopté la fixation lente en glacière telle que KOLMER la pratique pour le sérodiagnostic de la syphilis.

Voici cette méthode résumée en un tableau :

1) TITRAGE DU COMPLÉMENT.

Nombre de tubes	Complément 1/50	Eau phy.	Antigène pur	1/2 heure, Bain-Marie 37°	Sérum hémol.	Hématies mouton 2 %
1	0,05	0,35	0,05		0,1	0,1
2	0,10	0,30	0,05		0,1	0,1
3	0,15	0,25	0,05		0,1	0,1
4	0,20	0,20	0,05		0,1	0,1
5	0,25	0,15	0,05		0,1	0,1
6	0,30	0,10	0,05		0,1	0,1

Lire après un séjour d'une heure au bain-marie à 37°.

On admet qu'il y a une unité de complément dans le premier tube où il y a hémolyse totale. Pour la réaction, on utilise deux unités.

II) RÉACTION PROPREMENT DITE.

Nombre de tubes	Sérum chauffé	AG. pur	Complément	Eau phy.	16 heures à 4°	
					Sérum hémol.	Hématies mouton 2 %
1 (réaction)	0,05	0,05	2 U.	—	0,10	0,10
2 (témoin S)	0,05	—	2 U.	0,05	0,10	0,10
3 (témoin AG)	—	0,05	2 U.	0,05	0,10	0,10

On lit la réaction 10 minutes après l'hémolyse complète des témoins. La réaction sera positive quand le tube à réaction ne sera pas hémolysé, tandis que les témoins sérum et antigène le seront.

Si le témoin sérum est trouble, c'est que le sérum est anti-complémentaire, et on ne pourra pas conclure à la positivité du test, même si le tube à réaction semble positif.

N.B. — Les sérums de lapins présentant très souvent un pouvoir anti-complémentaire, alors que les antigènes en étaient dépourvus, nous avons par la suite, dans le titrage du complément, substitué le sérum suspect à l'antigène. L'inconvénient est que cela entraîne une grosse perte de temps, car il faut alors faire autant de titrages de complément qu'il y a de sérums à tester. En outre, on utilise bien plus de sérum de lapin, puisqu'il en faut 0,30 cc. pour un titrage.

Nous avons utilisé comme antigène le liquide hydatique de préférence à l'extrait de membranes, car il donne des résultats beaucoup plus constants et il est de plus dépourvu de tout pouvoir anti-complémentaire.

Résultats obtenus

a) *Sérums expérimentaux de lapins*

Avec le liquide hydatique comme antigène, nous avons testé de nombreux sérums humains normaux et de nombreux sérums de lapins non préparés, et avons toujours obtenu des réactions négatives, excepté le cas de deux lapins. Ces deux

animaux d'expérience furent sacrifiés et l'autopsie révéla la présence de cysticerques.

Tous les sérums de lapins sensibilisés aux extraits de membranes proligères ont donné des réac. tions franchement positives.

Les lapins préparés avec du liquide hydatique au lieu des extraits totaux de membranes, ont donné aussi des réactions positives, mais beaucoup plus faibles. C'est pourquoi nous avons toujours par la suite sensibilisé les animaux avec des extraits vermineux.

b) *Sérums de lapins parasités*

Trois lapins porteurs de Tænia serialis ont donné des réactions positives.

c) *Sérums humains*

Avec ce même antigène nous avons alors testé des sérums de malades pour qui le diagnostic clinique de kyste hydatique avait été posé.

Voici les résultats que nous avons obtenus :

Observation N° 1

M. X... (malade du docteur C...).

Diagnostic de kyste hydatique basé sur une image radiologique.

Réaction sérologique négative.

L'autopsie, après intervention, révèle un néoplasme.

Observation N° 2

M. X... Hôpital Saint-André (Service du Pr. P...).

Après extraction d'un kyste à la surface du foie.
Réaction sérologique positive.

Observation N° 3

Mme F... Hôpital Saint-André, salle 32, lit 11.

Diagnostic clinique de kyste hydatique du poumon.
Réaction sérologique négative.
L'intervention révèle une tumeur de nature indéterminée, mais n'ayant rien de commun avec un kyste hydatique.

Observation N° 4

Mme P... Hôpital Saint-André, salle 7, lit 36.

Réaction sérologique positive.
Kyste hydatique du foie méconnu parce que très difficile à voir par radiographie.

Observation N° 5

Mlle P..., Bagatelle, salle Villaret.

Opérée en 1950 d'un kyste hydatique du poumon.
Réaction sérologique positive.

Observation N° 6

Mme M..., Clinique Pasteur, 2e étage, chambre 5.

Diagnostic de kyste hydatique basé sur une image radiologique.
Réaction sérologique négative.
L'intervention révèle un kyste amibien.

Observation N° 7

M. L..., Hôpital Saint-André, salle 12.

Kyste hydatique du cerveau, un an auparavant.
Réaction sérologique positive.

Observation N° 8

Mme X... Laboratoire B.

La réaction de Casoni a été négative.

Réaction sérologique négative.

On renonce à l'intervention, il s'agit probablement d'un néoplasme.

Observation N° 9

Mme M... Clinique Mutualiste.

Grosseur sous l'estomac, une image radiologique montre qu'il est refoulé vers la gauche et entraîne l'hypothèse d'un kyste hydatique.

Réaction sérologique négative.

L'intervention révèle l'absence de kyste hydatique.

Pour le séro-diagnostic humain de l'échinococcose d'après le peu de réactions qu'il nous a été donné d'effectuer, le test semble être à peu près satisfaisant.

Nous voyons qu'en s'appliquant à éliminer les causes d'erreur rencontrées dans la méthode décrites par Weinberg, on arrive à des résultats bien plus encourageants.

Précipitoréaction

La simplicité des réactions de précipitation nous a tentée, et nous avons à notre tour cherché à mettre au point une méthode qui puisse servir de contrôle à la réaction de fixation du complément.

C'est encore sur les sérums de lapins hyperimmunisés que nous avons fait nos premiers essais, en utilisant toujours les antigènes qui nous avaient servi jusqu'alors.

a) *Simple mélange*

Nous avons tout d'abord fait un mélange pur et simple d'immunsérum et d'antigène en quantités égales dans de petits tubes à hémolyse. Nous avons fait plusieurs lots, pour en laisser un à la température du laboratoire, un en glacière, un autre à l'étuve, un autre enfin au bain-marie à 37°.

Les premiers essais avec du liquide hydatique pur n'ont donné aucun résultat concluant. Il apparaît bien un trouble, assez rapidement, dans les tubes qui sont au bain-marie ou à l'étuve, plus lentement à froid, mais il ne peut s'agir que de colonies microbiennes ou de dénaturation des protéines du sérum, car ces phénomènes se produisent aussi bien dans les témoins négatifs.

Nous n'avons donc pu tirer aucune conclusion de ces essais.

Pour éliminer un phénomène de zone éventuel, dû à la trop forte concentration des anticorps du sérum, ou au contraire à la trop forte concentration des substances antigéniques du liquide hydatique, nous avons répété la même opération avec différentes dilutions de l'un et de l'autre, mais n'avons pas obtenu de résultats plus heureux.

b) *Réactions interfaciales*

Nous avons alors essayé une autre technique. Au lieu d'être mélangés purement et simplement, les antigènes et les anticorps étaient seulement amenés au contact l'un de l'autre dans de fins tubes de verre de deux millimètres de diamètre.

Dans ces conditions, avec l'immunsérum homologue de lapin, le liquide hydatique donnait un anneau si léger à l'interface qu'on pouvait considérer la réaction comme négative, mais avec l'extrait total de membranes proligères, on obtenait une réaction légèrement positive avec un témoin qui restait franchement négatif.

Sans être absolument satisfaisante, cette technique présentait tout de même un progrès, par rapport au simple mélange, et a été retenue dans nos essais de précipitation avec une substance adjuvante.

c) *Réactions avec substances adjuvantes*

En effet, nous avons essayé de sensibiliser l'antigène par adjonction de substances à grosses molécules.

Nous avons tout d'abord fait appel à la polyvinylpyrrolidone.

L'antigène était préparé de la façon suivante :

Antigène	1 partie.
Polyvinylpyrrolidone	1 partie.
Eau physiologique	4 parties.

Ce mélange était mis dans des tubes de verre très propres de deux millimètres de diamètre. Avec une pipette effilée, l'immunsérum était amené au fond du tube, sans qu'il y ait mélange des deux liquides. Le tout restait au repos quelques heures en armoire frigorifique à 4° pour éviter qu'une culture microbienne ne vienne gêner la lecture.

Résultats obtenus

Quatre sérums de lapins ont été testés.

Deux immunsérums anti-liquide hydatique, à la réaction de fixation du complément, s'étaient révélés pauvres en anticorps, ont donné des anneaux peu nets.

Au contraire, deux immunsérums de lapins préparés avec des extraits de membranes proligères, ont donné des réactions franchement positives, concordant avec la réaction de fixation du complément.

Quatre sérums témoins négatifs ont donné des interfaces dépourvus de tout précipité.

Après quelques heures supplémentaires d'attente, les tubes où il y avait réaction positive étaient envahis par de gros flocons qui gagnaient d'abord tout le liquide et finissaient par tomber au fond du tube.

Ces résultats seront mieux illustrés par un tableau comparatif.

Série	Fixation du complément			Précipitoréaction
N° 1	+	jusqu'à la dilution	1/2	Anneau faible
N° 2	+	—	1/2	Anneau faible
N° 3	+	—	1/16	Anneau net
N° 4	+	—	1/32	Anneau net
N° 5	—			Pas d'anneau
N° 6	—			Pas d'anneau

Il semblait donc y avoir concordance entre les résultats de la précipitoréaction et ceux de la fixation du complément.

Mais les mêmes essais ont été repris avec d'autres immunsérums de lapins sensibilisés aux membranes proligères, et ont donné des réactions telle-

ment faibles que leur interprétation était trop délicate pour oser affirmer la positivité du test.

Il serait néanmoins intéressant de pousser plus loin les recherches dans ce domaine.

Nous avons alors essayé de faire appel aux réactions quantitatives, en utilisant un immunsérum dilué au quart et un antigène de plus en plus dilué.

Cette fois, pour avoir une concentration fixe en polyvinylpyrrolidone, c'est dans l'immunsérum que nous avons ajouté la substance sensibilisante, et nous avons fait le mélange dans les proportions suivantes :

Immunsérum	5 parties
Polyvinylpyrrolidone	4 parties
Eau physiologique	11 parties

ce qui nous donnait les concentrations finales de :

Immunsérum	1/4
Polyvinylpyrrolidone	1/5

Nous avons fait trois séries de dix tubes pour chaque couple antigène-anticorps.

La première série était laissée à la température du laboratoire pendant trois heures, la seconde était mise une heure au bain-marie à 37°, la troisième trois heures au même bain-marie.

Pour exprimer l'intensité du précipité, nous avons convenu de noter de 1 à 10 arbitrairement depuis 1 : anneau très léger, jusqu'à 10 où ce n'est même plus un anneau, mais de gros flocons tellement denses qu'ils tombent au fond du tube au lieu de rester à l'interface.

Voici les résultats que nous avons obtenus avec le couple liquide hydatique, immunsérum de lapin anti-membranes proligères, dilué au quart.

Dilutions	de L.H.	I.S. 1/4	RESULTATS Laboratoire 3 heures	Bain-Marie 1 heure	Bain-Marie 3 heures
1/1	0,20 cc.	0,20	3	2	4
1/2	0,20 cc.	0,20	3	2	4
1/4	0,20 cc.	0,20	3	3	4
1/8	0,20 cc.	0,20	3	4	7
1/16	0,20 cc.	0,20	3	4	7
1/32	0,20 cc.	0,20	3	3	6
1/64	0,20 cc.	0,20	3	2	4
1/128	0,20 cc.	0,20	3	2	3
1/256	0.20 cc.	0,20	3	1	3
1/512	0.20 cc.	0,20	2	1	2
1/1024	0,20 cc.	0,20	2	1	2

C'est donc le séjour au bain-marie pendant trois heures qui semble donner les résultats les plus nets.

Nous avons enfin fait d'autres essais en sensibilisant cette fois non plus à la polyvinylpyrrolidone, mais par addition de dextran à raison de 5 %. C'est toujours la méthode des interfaces qui a été mise en jeu.

Deux immunsérums de lapins anti-membranes proligères ont donné des réactions faiblement positives avec le liquide hydatique, mais nettes avec l'extrait total de membranes proligères. L'inconvénient est que le témoin négatif était alors un peu douteux. La différence était toutefois assez nette entre témoins et réactions pour qu'on puisse conclure à une réaction positive.

Quoi qu'il en soit, trop peu d'essais ont été effectués et dans l'ensemble les lectures se sont révélées un peu trop délicates pour que nous puissions nous permettre de tirer des conclusions définitives. Mais des espoirs sont tout de même permis, et il semble qu'il y ait là tout un domaine intéressant à explorer.

Réactions allergiques

Cherchant un moyen de contrôle des réactions de fixation du complément plus fidèle que les précipitoréactions, nous nous sommes adressés aux manifestations d'ordre allergique.

Historique de l'intradermoréaction

C'est Troisier qui, en 1910, au cours des recherches de Boidin et Laroche (3) sur l'anaphylaxie hydatique, pratiqua pour la première fois une réaction cutanée en vue de poser le diagnostic immunologique de l'échinococcose.

Rappelons que ces auteurs ont été les premiers avec Chauffard, qui aient attribué à l'anaphylaxie les accidents graves consécutifs à la rupture ou à la ponction de kystes hydatiques.

Troisier avait pratiqué sa réaction avec une goutte de liquide hydatique humain filtré et chauffé à deux reprises à 56°. Il avait bien observé une papule œdémateuse au point d'injection, mais son malade réagissait aussi à l'injection d'eau physiologique. De plus, chez un urticarien, ce liquide hydatique produisait une réaction analogue.

C'est Casoni (11) qui vulgarisa la méthode par la suite. Il utilisait un antigène phénolé.

Après un accueil assez froid pendant quelques années, de nombreux auteurs pratiquèrent la méthode et furent d'accord avec Casoni pour reconnaître une réelle valeur à la technique, mais en se basant uniquement sur la réaction tardive. Ce sont Bassigalupo (1) en 1918, Gasbarrini (23) en 1919, Luridiana (38), Serra (56) Pontano (50) en 1910, Botteri (5) en 1922, Manassei, Seryantie (57) en

1923, Gernez (24) Deve (15) en 1926, Longo (37) en 1932. Pour ce dernier, la réaction précoce donnerait 20 % de fausses réactions positives.

D'autres auteurs ne se basent au contraire que sur la réaction précoce. Ce sont Ithurrat et Calcagno (29) en 1923, Deush (14), Lemaire et Thiodet (36) en 1926, Bressot (6 bis), Kellaway et Fairley (33) en 1932.

Il est à remarquer que cette réaction donne des résultats bien meilleurs que celles qui avaient été utilisées jusqu'alors.

Hoder (27) identifie 100 % d'infestation par test cutané, seulement 90 % par fixation du complément, et 50 % par précipitoréaction. Ses statistiques, il faut le dire, sont les plus optimistes de toutes celles qu'on peut rencontrer dans la littérature.

Fairley et Kellaway trouvent 75 % de résultats heureux. Ces auteurs considèrent que l'absence de réponse immédiate prouve l'absence de parasites dans 90 % des cas.

Mais Urbain (61) sur des animaux sauvages, ne trouve que des résultats assez décevants, et il donne la préférence à la réaction de fixation du complément.

Pour intéressantes qu'elles soient, ces méthodes sont loin d'être infaillibles, de l'avis même de leurs défenseurs les plus acharnés.

Certaines erreurs sont facilement explicables. De nombreux auteurs ont constaté qu'un kyste suppuré ne donne presque jamais de réaction positive. Des exemples ont été cités par Gasbarrini (23) en 1919, Bressot (6 bis) en 1932, Pontano (50) en 1920, et Mogena (40) en 1926. Ithurrat (28), au contraire, note une persistance de l'allergie cuta-

née, malgré la suppuration du kyste. Sarreau (55) cite un cas personnel positif et un négatif.

D'autres auteurs, et nous mêmes, avons remarqué qu'un kyste calcifié n'entraînait pas de réaction intradermique. (Observation n° 10, p. 68).

Il arrive enfin qu'un kyste normal n'entraîne pas la formation de papule non plus après injection d'antigène hydatique. Lemaire et Thiodet (36) ont remarqué le fait sans l'expliquer. Ils ont noté que la réaction d'abord négative était devenue positive après l'intervention.

Sans doute le malade était-il à une période où les anticorps sont à un taux très bas dans le sérum sanguin, en fin de période de décrément, par exemple ; et à l'intervention, l'écoulement d'un peu de liquide hydatique aura-t-il joué le rôle d'une injection de rappel chez un individu déjà immunisé, provoquant une brusque remontée du taux de ses anticorps.

Sarreau (55) a signalé qu'il existe dans la cachexie hydatique un état d'anergie capable d'entraîner aussi des réactions faussement négatives.

On trouve enfin des réactions faussement positives, soit parce qu'on est en présence d'un sujet asthmatique, particulièrement sensible aux protéines étrangères, soit qu'on ait affaire à un individu polysensibilisé.

Jimenez-Galliano (30) a cité encore le cas de sujets bien portants qui, après avoir reçu plusieurs injections intradermiques de liquide hydatique, finissaient par donner une réaction positive.

On a pu encore avoir affaire à une réaction de groupe.

Bressot (6 bis) et Morenas (41 a) ont montré que la réaction n'était pas spécifique, mais pouvait être positive avec tous les ténias. Ils ont prou-

vé qu'un porteur de ténia pouvait réagir à l'injection intradermique d'un antigène hydatique, et qu'inversement on pouvait déceler un kyste hydatique chez un malade en utilisant pour antigène des extraits de différents ténias. C'est ce qu'a expérimenté Pautrizel (46 a) avec un antigène à base de Tænia serialis.

Mais bien souvent aussi, l'erreur est due à la lecture, car les réactions cutanées ne sont pas toujours très nettes et sont parfois d'interprétation délicate. C'est ce que soulignait Callot (8) en 1934.

C'est la raison pour laquelle nous avons, en pratiquant ce test, cherché un moyen de lecture plus sûr que la papule ortiée classiquement décrite.

Voyons tout d'abord la technique de la réaction intradermique telle que Casoni et ses successeurs l'ont pratiquée.

Technique de la réaction de Casoni

Après avoir aseptisé la peau avec un tampon d'alcool ou d'éther, on injecte dans le derme, au niveau de la face externe du bras, 0,20 à 0,50 cc. de liquide hydatique stérilisé par filtration et chauffé à deux reprises à 56°.

On fait un témoin à l'autre bras, en injectant la même quantité d'eau physiologique ou d'eau peptonée faible.

Lecture

Si la réaction est négative, la petite papule blanchâtre provoquée par l'injection du liquide hydatique dans le derme, va se résorber progressivement et aura complètement disparu en moins d'une demi-heure.

Si la réaction est positive et précoce, au bout

de quinze à vingt minutes et parfois immédiatement, on voit la papule s'agrandir pour atteindre en trente minutes deux à trois fois son diamètre primitif.

Le placard œdémateux blanchâtre et d'aspect urticarien est entouré d'un halo érythémateux qui présente des prolongements que Fisahn (21) a comparés à des pseudopodes. Le diamètre de cette zone est de quatre à huit centimètres. La réaction précoce disparaît en quelques heures, après avoir présenté son maximum au bout d'une demi-heure environ.

Fisahn conseille de faire en plus une injection témoin d'histamine qui doit toujours être positive.

La réaction tardive commence de six à vingt-quatre heures après l'injection. Elle se lit au bout de vingt-quatre heures. Elle consiste en une large plaque érythémateuse avec œdème prurigineux pouvant s'étendre à tout le membre.

Inconvénients de cette lecture

— 1) Nous avons vu que les auteurs ne sont absolument pas d'accord sur le moment opportun pour effectuer cette lecture. On a tendance, maintenant, à ne considérer que la réaction précoce, car les auteurs qui la défendent ont des statistiques qui portent sur un nombre de cas bien plus important.

D'après Fisahn, les deux réponses devraient être interprétées de façon identique.

— 2) Il peut se produire une réaction d'irritation non spécifique aussitôt après l'injection, mais elle dure très peu et ne doit pas entraîner d'erreur si l'expérimentateur a une habitude suffisante.

— 3) Il est des cas douteux où il est très difficile de déterminer si la réaction est positive ou

négative. Morenas et Lagrèze (42) parlent de réaction ébauchée et la considèrent toujours comme négative. La zone érythémateuse est aussi importante, mais la papule œdémateuse manque.

Ils décrivent aussi une réaction subpositive où la papule existe, quoique plus petite.

D'après Sarreau (55), il est certain qu'un facteur d'appréciation personnelle peut fausser les résultats et une grande habitude est nécessaire pour interpréter correctement la réaction dans ce cas.

Sans doute est-ce une des raisons des réserves faites par certains auteurs à l'égard de la valeur de la réaction de Casoni.

Nouveau moyen de lecture proposé

La lecture semblant donc être le point le plus délicat, dans l'intradermoréaction de Casoni, nous avons cherché un autre moyen d'interprétation, en mettant en évidence le petit choc local antigène-anticorps qui se produit lors de la rencontre dans le derme entre le liquide hydatique injecté et les anticorps du sujet atteint d'échinococcose.

Le phénomène d'Arthus classiquement décrit pouvant prêter à confusion, nous avons étudié les variations du taux de l'éosinophilie sanguine, après injection dans le derme de l'antigène hydatique.

Manassei (39), en 1923, avait déjà remarqué que l'épreuve de Casoni entraînait des modifications de la formule leucocytaire chez des porteurs de kystes hydatiques. Il faisait une formule immédiatement avant l'injection, et l'autre 48 heures après seulement. Il a toujours obtenu une augmentation du pourcentage des polynucléaires éosinophiles chez des malades atteints d'échinococcose,

tandis que ces éléments restaient stationnaires chez des individus exempts de kyste hydatique.

De notre côté, nous avons suivi, chez des malades pour qui le diagnostic clinique d'hydatidose avait été posé, les variations de l'éosinophilie sanguine, après injection intradermique de liquide hydatique. Et, au lieu d'une hyperéosinophilie, qu'avait obtenue Manassei, nous avons trouvé d'abord une ésinopénie précoce, dans les quelques heures qui suivent l'injection, puis une légère remontée du taux de ces éléments dans les vingt-quatre heures suivantes.

Technique utilisée

En pratique, nous avons procédé de la façon suivante :

Les éosinophiles étaient dénombrés dans le sang du patient, avant que soit faite l'injection intradermique de liquide hydatique.

Pour cela, le sang était prélevé dans une pipette mélangeur permettant de faire des dilutions au 1/20, et sur un liquide ainsi composé :

Eosine à 1 % en solution alcoolique..	5 parties
Acétone	5 parties
Eau distillée	50 parties

Ce liquide a pour but de lyser toutes les cellules sanguines autres que les polynucléaires éosinophiles, à condition d'agiter suffisamment, sans brutalité toutefois, car la membrane des éosinophiles est assez fragile, et sa rupture gênerait beaucoup la numération.

Ces éléments, dénombrés à la cellule de Nageotte, apparaissent en rose avec des granulations rouge foncé et réfringentes, et sont ainsi très faciles à reconnaître.

Chaque rectangle de la cellule de Nageotte faisant 1,25 millimètre-cube, il suffit de compter 16 rectangles pour avoir directement le nombre de polynucléaires éosinophiles par millimètre-cube de sang. En effet, le liquide obtenu est une dilution 1/20, si on a compté X éléments par rectangle, il y aura $\frac{X \times 4 \times 20}{5}$, soit X × 16 dans le sang non dilué.

N.B. — Si on a mis un peu trop de liquide dans la cellule de Nageotte, il arrive que la répartition soit mauvaise, et qu'il y ait plus d'éosinophiles sur les bords. On convient donc de toujours compter les huit rectangles qui sont de part et d'autre des trois rayures centrales, et les huit qui sont sur les bords, soit quatre de chaque côté.

Des essais comparatifs de numération ont été faits à la cellule de Nageotte et par formules leucocytaires associées à la numération des leucocytes totaux. Les résultats ont toujours été plus constants à la cellule de Nageotte, à condition de prendre les précautions précédemment indiquées.

Ses éosinophiles une fois dénombrés, le patient recevait 0,20 cc. de liquide hydatique stérilisé par filtration sur filtre Seitz, en injection intradermique à la face externe du bras. La lecture habituelle était faite une demi-heure après, et une seconde numération d'éosinophiles était faite à ce moment-là. Les numérations suivantes étaient effectuées à intervalles réguliers de deux heures.

Des essais ont tout d'abord été faits en série sur des individus normaux ou supposés tels. Dans ce cas, nous avons toujours obtenu un nombre

d'éosinophiles à peu près constant. Il n'y a jamais eu que des variations d'ordre physiologique.

Nous avons ensuite testé des malades pour qui le diagnostic clinique d'echinococcose avait été posé. Chaque fois qu'il y avait effectivement un kyste hydatique, les éosinophiles circulants ont fait dans les quatre heures qui ont suivi l'injection, une chute d'au moins 50 %.

Observation N° 1

M. X..., Hôpital Saint-André ((service du Pr. P.).

Opéré d'un kyste hydatique du foie.
Réaction sérologique positive.

1re	numération témoin d'éosinophiles.....		704
	Réaction intradermique positive.		
2e	numération au bout d'une 1/2 heure....		244
3e	—	— 2 heures.....	340
4e	—	— 4 heures.....	550
5e	—	— 6 heures.....	740
6e	—	— 24 heures.....	752
7e	—	— 48 heures.....	736
8e	—	— 72 heures.....	632
9e	—	— 96 heures.....	720
10e	—	— 120 heures.....	660

(Voir courbe n° 1)

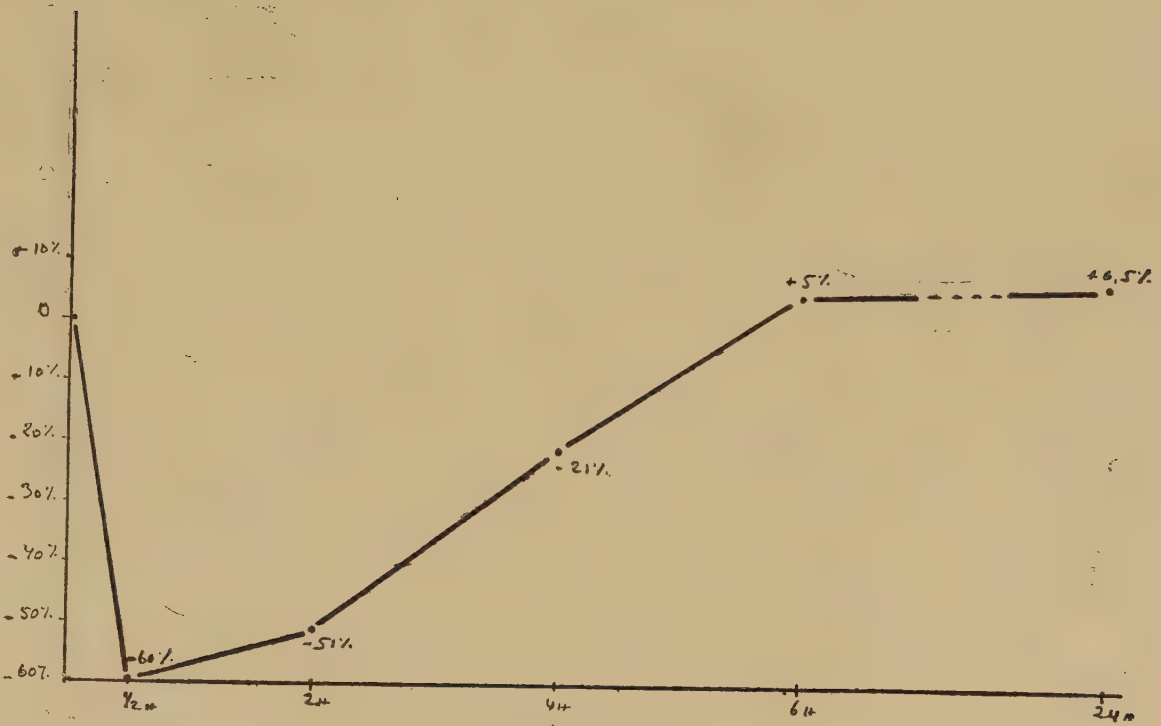
Observation N° 2

Mme F..., Hôpital Saint-André (salle 32, lit 11).

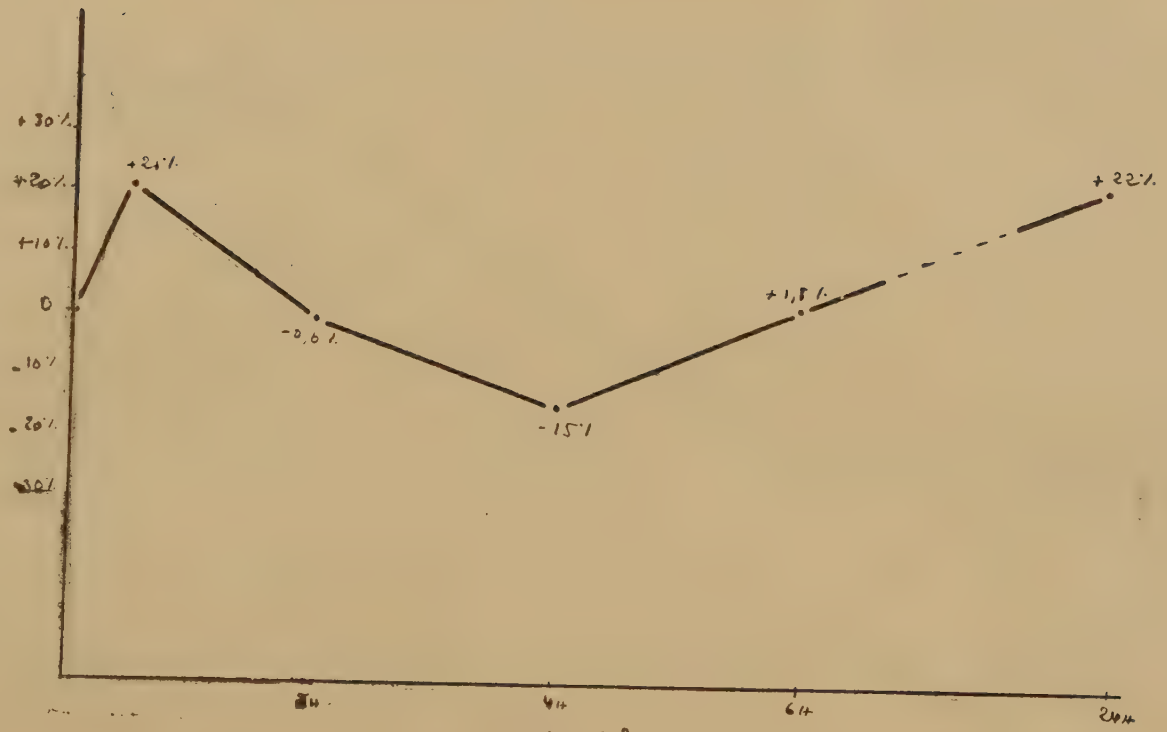
Diagnostic clinique de kyste hydatique du poumon.
Réaction sérologique négative.

1re	numération témoin d'éosinophiles		1848
	Réaction intradermique négative.		
2e	numération au bout d'une 1/2 heure....		1848
3e	—	— 2 heures.....	1836
4e	—	— 4 heures.....	1556
5e	—	— 6 heures.....	1884
6e	—	— 24 heures.....	2392

(Voir courbe n° 2)



courbe n° 1



courbe n° 2

L'intervention a tout de même eu lieu quelques jours plus tard et a révélé une tumeur qui n'avait rien de commun avec un kyste hydatique.

Cette observation prouve une fois de plus qu'une hyperéosinophilie n'est pas forcément le témoin d'une échinococcose.

Observation N° 3

Mme P..., Hôpital Saint-Adré (salle 7, lit 36).

Opérée d'un kyste hydatique du foie.

Réaction sérologique positive.

1re	numération témoin d'éosinophiles		341
	Réaction intradermique positive.		
2e	numératon au bout d'une 1/2 heure....		146
3e	—	— 2 heures.....	288
4e	—	— 4 heures.....	276
5e	—	— 24 heures.....	359

(Voir courbe n° 3)

Observation N° 4

Mlle P..., Bagatelle (salle Villaret).

Opérée d'un kyste hydatique du poumon.
Crises d'urticaire fréquentes, qui cèdent au 3277 RP.
Réaction sérologique positive.

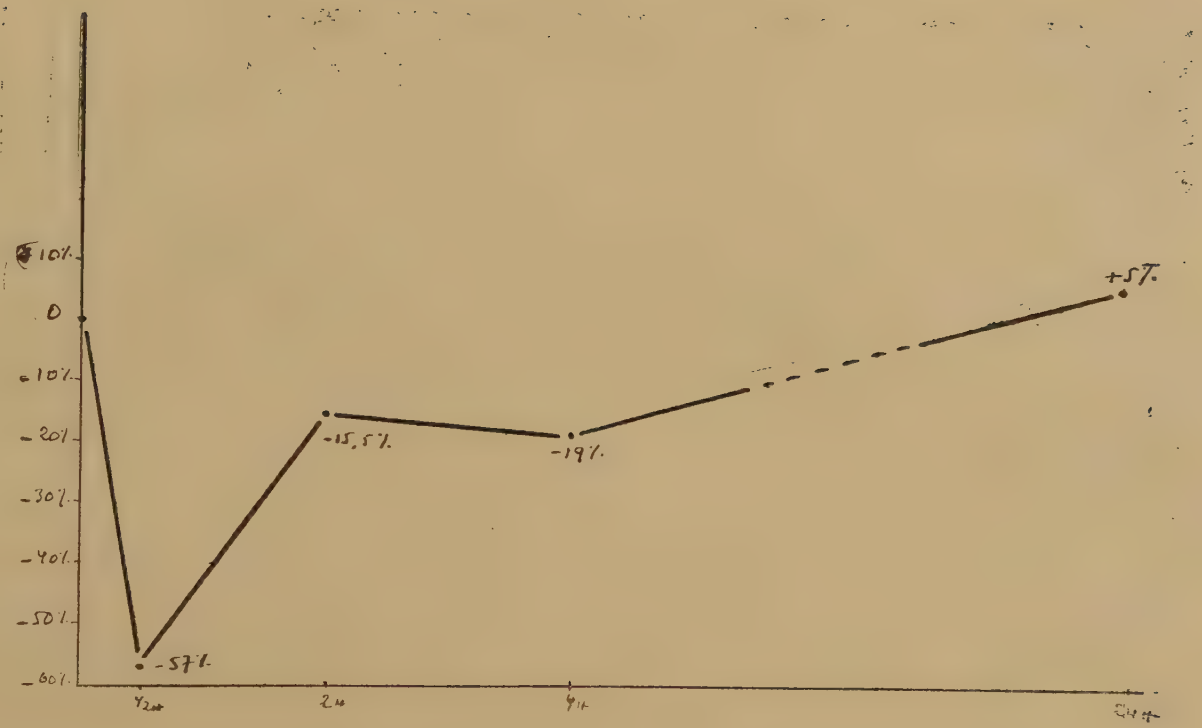
1re	numération témoin d'éosinophiles		394
	Réaction intradermique fortement positive.		
2e	numération au bout d'une 1/2 heure....		285
3e	—	— 2 heures.....	156
4e	—	— 4 heures.....	192
5e	—	— 7 heures.....	380

(Voir courbe n° 4)

Observation N° 5

Mme M..., Clinique P... (2e étage, chambre 5).

Diagnostic clinique de kyste hydatique du foie.
Réaction sérologique négative.



courbe n° 3

courbe n° 4.

1re	numération témoin d'éosinophiles	1844
	Réaction intradermique négative.	
2e	numération au bout d'une 1/2 heure....	3056
3e	— — 2 heures.....	2708
4e	— — 4 heures.....	2248
5e	— — 6 heures.....	1822
6e	— — 24 heures.....	3112

(Voir courbe n° 5)

Le test est donc franchement négatif. Fixation du complément, réaction intradermique et test d'éosinopénie sont d'accord pour éliminer l'hypothèse d'un kyste hydatique.

L'intervention révèle la présence d'un kyste amibien.

On peut noter, une fois de plus, qu'une hyperéosinophilie n'est pas spécifique de l'échinococcose.

Observation N° 6

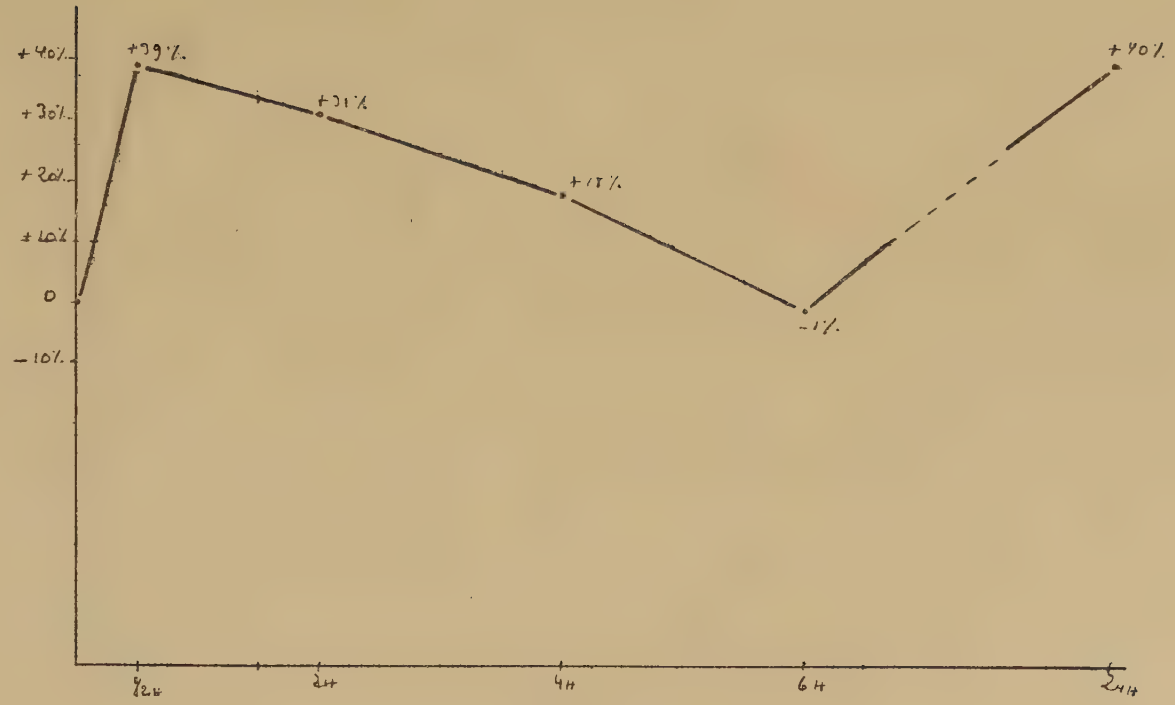
M. X... Clinique P...

Opéré d'un kyste hydatique du poumon.

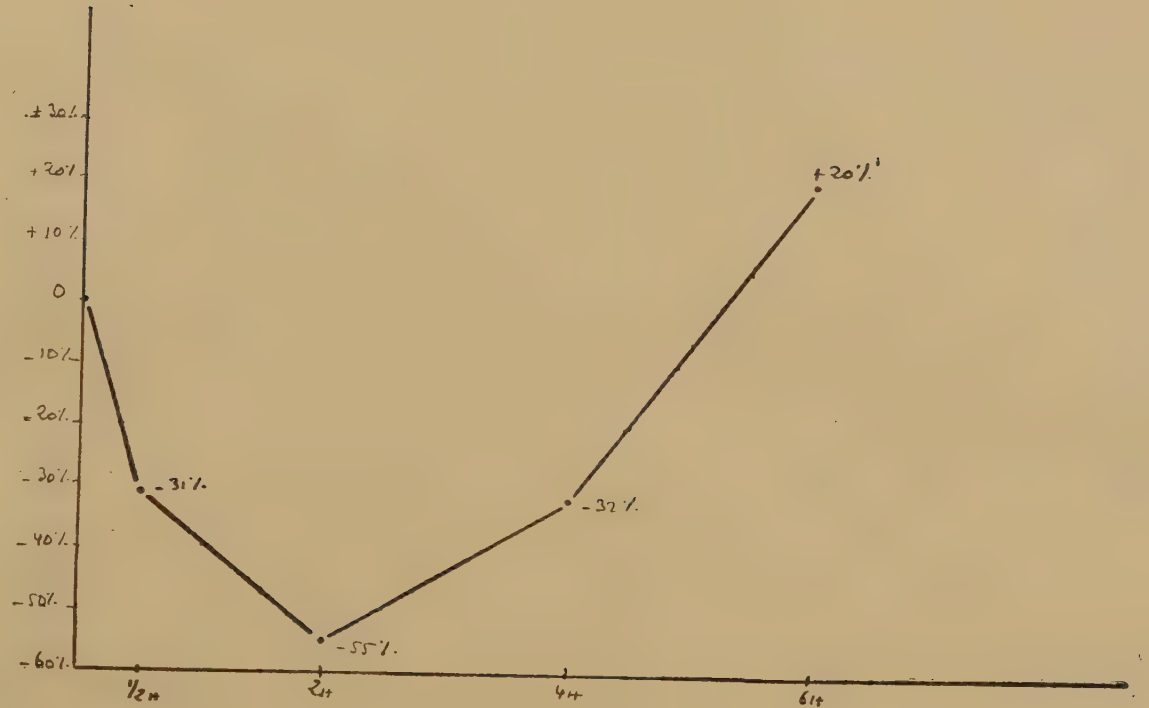
1re	numération témoin d'éosinophiles	468
	Réaction intradermique positive.	
	Elle a été effectuée avec un complexe glucido-lipido-polypeptidique de membranes proligères à la place du liquide hydatique.	
2e	numération au bout d'une 1/2 heure....	320
3e	— — 2 heures.....	208
4e	— — 4 heures.....	312
5e	— — 6 heures.....	589

(Voir courbe n° 6)

Le test est bien positif, comme il fallait s'y attendre. La chute enregistrée est de 55 % et atteint son maximum en deux heures. Elle est suivie, en six heures, d'une remontée de 20 %.



courbe n° 5



courbe n° 6

Observation N° 7

Mme C... Pellegrin (service du Pr. J...).

Hypothèse de kyste hydatique.
Réaction sérologique négative.

1re	numération témoin d'éosinophiles		560
	Réaction intradermique négative.		
2e	numération au bout d'une 1/2 heure....		524
3e	—	— 2 heures.....	516
4e	—	— 4 heures.....	452
5e	—	— 6 heures.....	489

(Voir courbe n° 7)

L'intervention prévue n'a pas eu lieu, mais selon toute vraisemblance, il ne s'agissait pas de kyste hydatique.

Observation N° 8

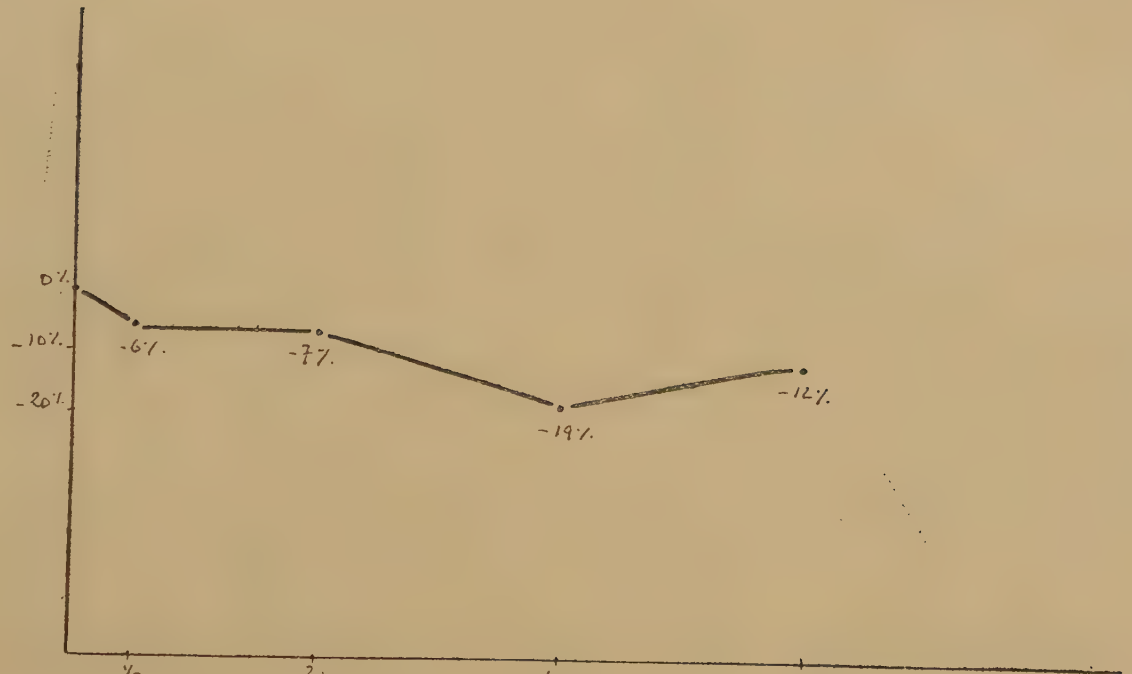
Mme M..., Clinique Mutualiste.

Une radiographie montre un estomac refoulé vers la gauche et entraîne l'hypothèse d'un kyste hydatique du foie.
Réaction sérologique négative.

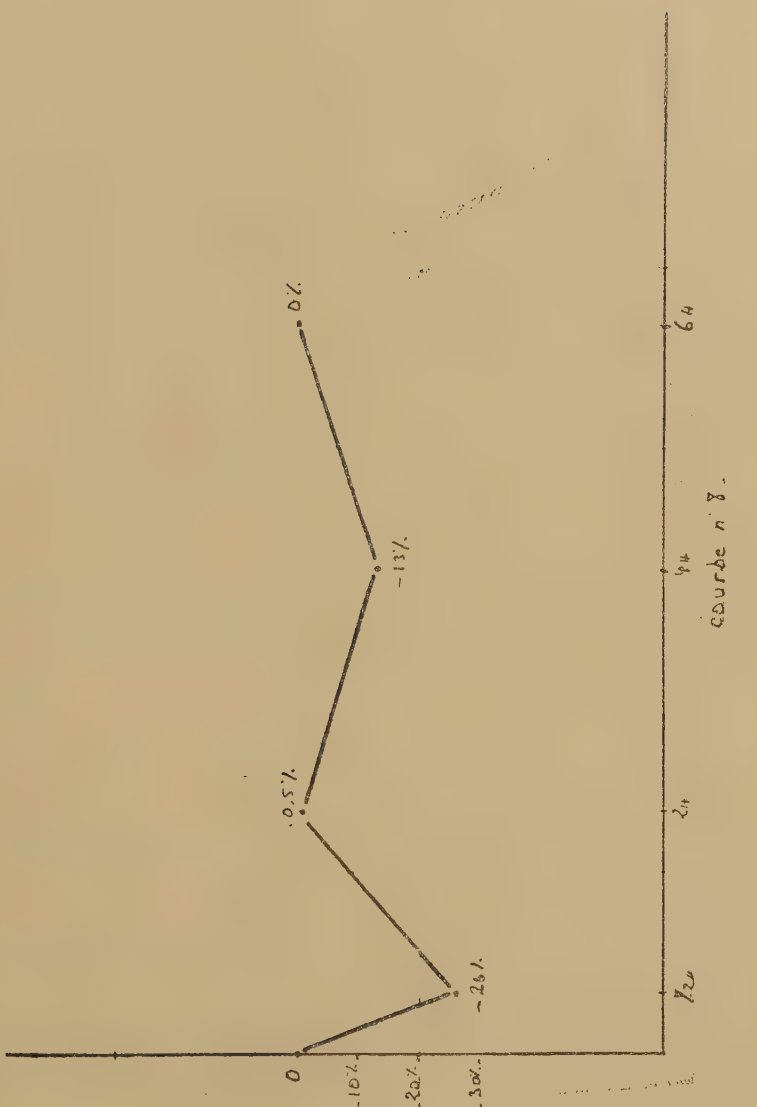
1re	numération témoin d'éosinophiles		61
	Réaction intradermique négative.		
2e	numération d'éosinophiles		45
3e	numération au bout de 2 heures.....		58
4e	—	— 4 heures.....	53
5e	—	— 6 heures.....	61

(Voir courbe n° 8)

Ce test négatif est confirmé par l'intervention qui révèle une multitude de petits kystes de nature indéterminée, mais assurément pas d'origine hydatique.



courbe n° 7


0
-10%
-20%
-30%
-26%
-0,5%
-13%
0%
12h
24
36
48
64
courbe n° 8.

Observation N° 9

Mme X... Hôpital du Tondu (service de cardiologie).

Hypothèse de kyste hydatique.

1re numération témoin d'éosinophiles 676

Réaction intradermique négative.

L'injection de 0,20 cc. de liquide hydatique à un bras donne une réaction franchement négative, l'autre bras reçoit 0,20 cc. d'extrait total de membranes proligères filtré, et présente une très légère réaction d'irritation non spécifique et que nous considérons comme négative. Elle présente son maximum en dix minutes puis s'atténue rapidement.

2e	numération	au bout d'une	1/2 heure....	579
3e	—	—	2 heures.....	522
4e	—	—	5 heures.....	580
5e	—	—	7 heures.....	640

(Voir courbe n° 9)

La chute maxima enregistrée n'étant que de 22 %, le test est considéré comme négatif. L'intervention n'a pas eu lieu.

Observation N° 10

Mme B..., Laboratoire du Dr. B...

Diagnostic de kyste hydatique basé sur une image radiologique.

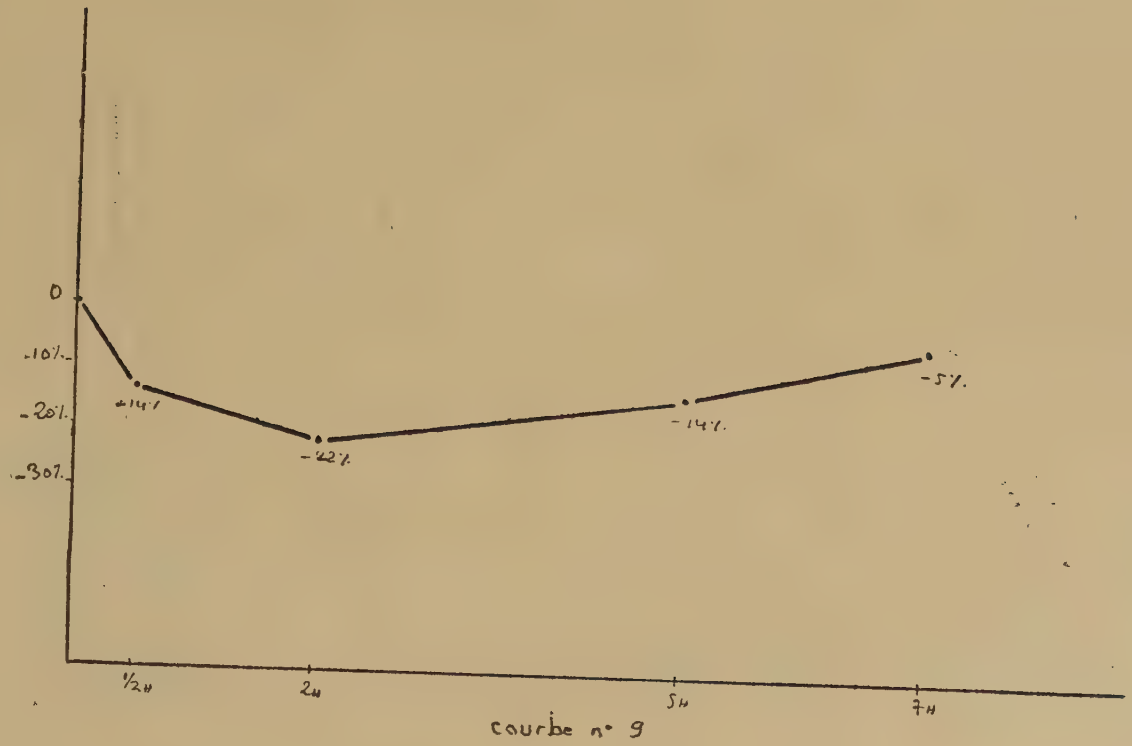
La réaction sérologique n'a pas été faite.

1re numération témoin d'éosinophiles 82

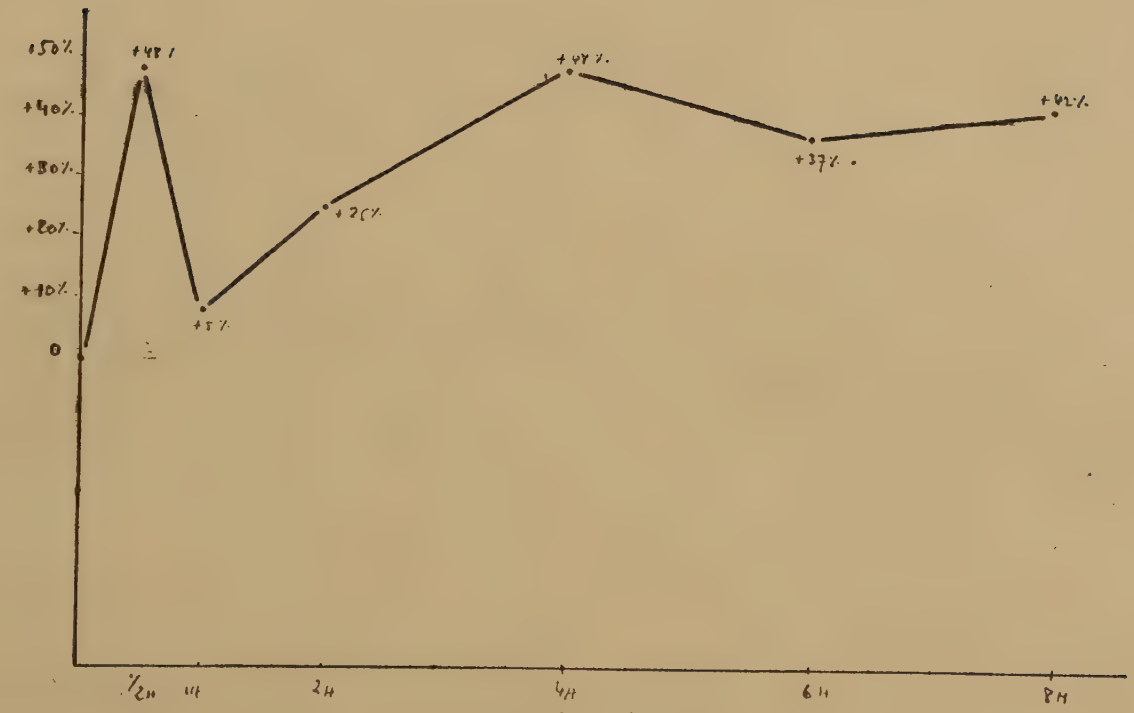
Réaction intradermique négative.

2e	numération	au bout d'une	1/2 heure....	158
3e	—	—	1 heure	89
4e	—	—	2 heures.....	110
5e	—	—	4 heures.....	159
6e	—	—	6 heures.....	141
7e	—	—	8 heures.....	150

(Voir courbe n° 10)



courbe n° 9



courbe n° 10

Le test est donc franchement négatif. Mais d'après le médecin traitant, il s'agit tout de même d'un kyste hydatique qui serait calcifié depuis une vingtaine d'années.

Morenas (41) et Lemaire ont déjà signalé des cas analogues où un kyste mort donnait une réaction de Casoni négative. Ils ne donnent d'ailleurs aucune explication et se contentent de citer les faits.

Sans doute n'y a-t-il plus d'anticorps parce qu'aucune substance antigénique n'est plus apportée à l'organisme et le taux des anticorps est-il tombé trop bas pour pouvoir être décelé par nos moyens d'investigation courants.

Il est à remarquer que cette malade présente une élévation du nombre de ses éosinophiles de 48 %, quatre heures après l'injection de liquide hydatique.

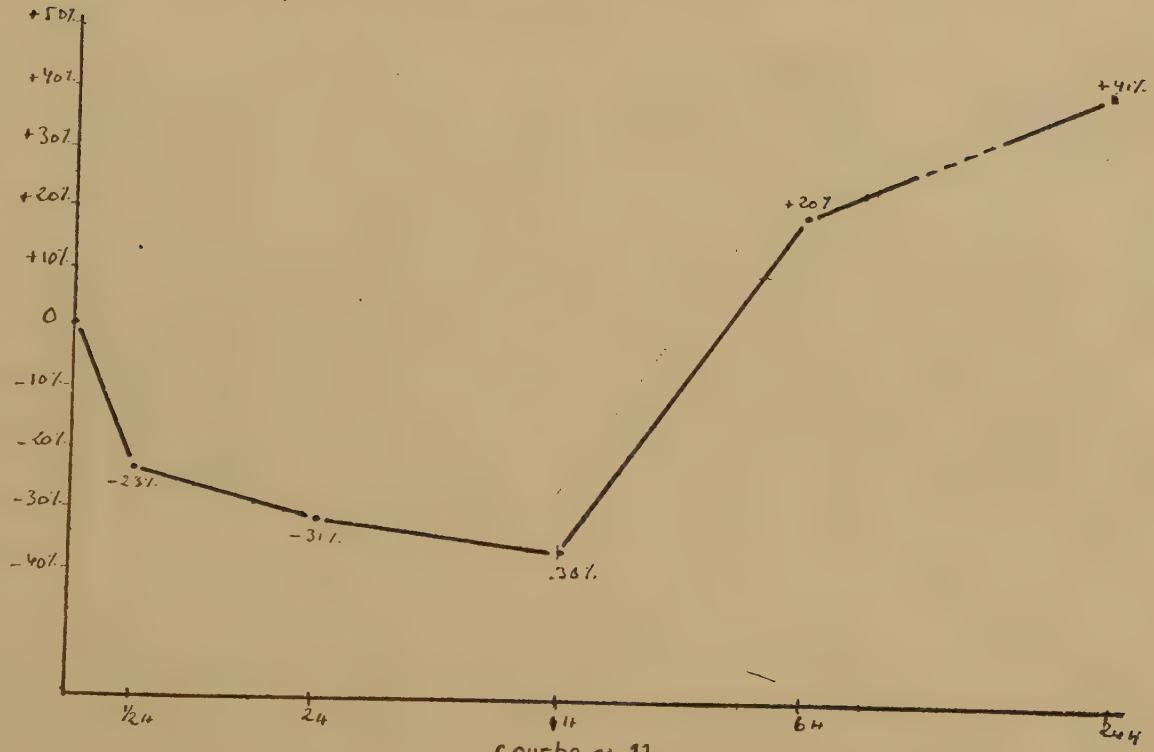
Observation N° 11

M. F..., malade du Dr. G...

Une image radiologique avait entraîné un diagnostic de kyste hydatique, qui semble ensuite confirmé par une réaction de Casoni positive. A l'intervention, le Dr. L... ne trouve pas de kyste hydatique.

1re	numération témoin d'éosinophiles		784
	Réaction intradermique négative.		
	Elle a été pratiquée avec le complexe glucido-lipido-polypeptidique de membranes proligères.		
2e	numération au bout d'une 1/2 heure....		588
3e	—	— 2 heures.....	638
4e	—	— 4 heures.....	496
5e	—	— 6 heures.....	983
6e	—	— 24 heures.....	1329

(Voir courbe n° 11)



courbe n° 11

La chute maximum enregistrée : 36 % en quatre heures, n'est pas assez nette pour oser poser un diagnostic. Il est regrettable que la réaction sérologique n'ait pu être effectuée.

Le malade, très nerveux, est fatigué et irritable. Peut-être est-il en état d'anergie, ce qui expliquerait la faiblesse de sa réponse au test d'éosinopénie.

Il aurait été intéressant de refaire le test après une injection intradermique d'histamine, ce qui aurait servi de témoin positif, et aurait permis de tâter la sensibilité du sujet. Mais le malade fatigué ne veut plus entendre parler d'examens de laboratoire.

Observation N° 12

M. M..., Clinique T...

Ce malade devait être opéré, mais fait une vomique deux jours avant la date prévue pour l'intervention.

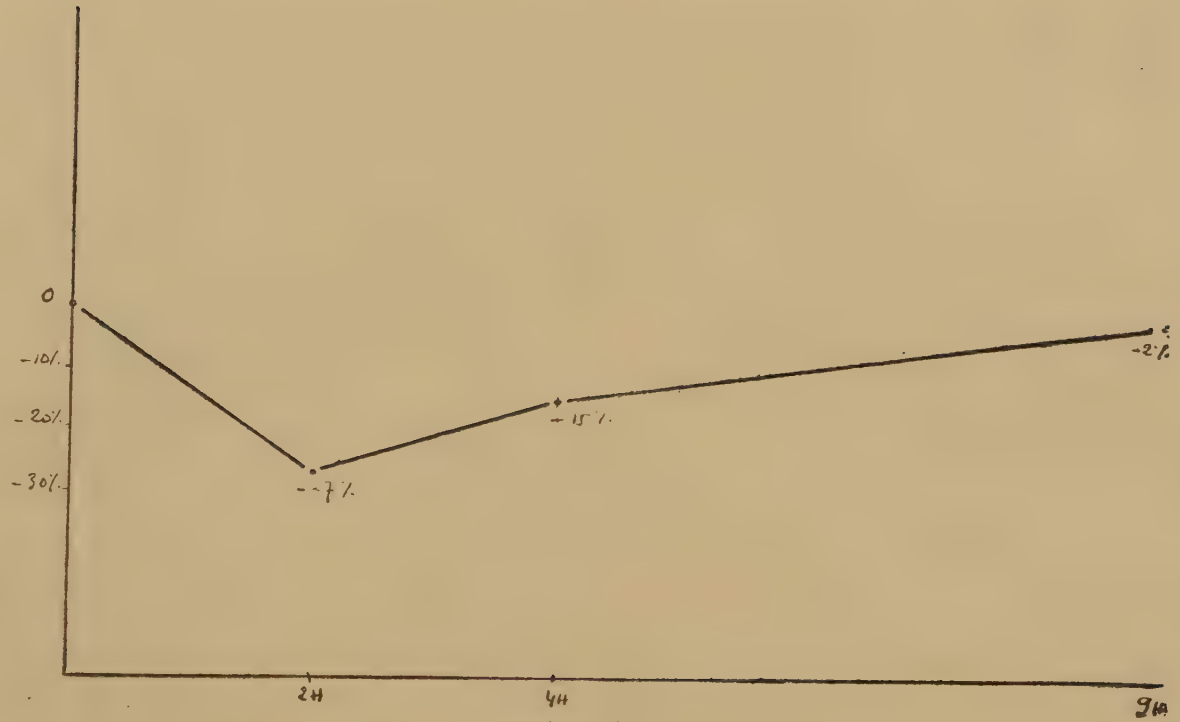
Réaction sérologique *positive.*

1re	numération témoin d'éosinophiles		2368
	Réaction intradermique *négative.*		
2e	numération au bout de	2 heures.....	1708
3e	— —	4 heures.....	2004
4e	— —	9 heures.....	2300

(Voir courbe n° 12)

La réaction intradermique est franchement négative. La chute des polynucléaires éosinophiles, n'étant que de 28 %, ne permet pas d'affirmer la positivité du test. Mais le malade est cachectique et doit se trouver dans un état d'anergie qui suffit à expliquer cette réaction négative.

Callot (8) fait remarquer, lui aussi, qu'en cas de cachexie hydatique, on trouve des réactions de Casoni négatives.



Courbe n°12

C'est un cas où une réaction de fixation du complément, effectuée correctement, donne un résultat plus sûr qu'une réaction intradermique, même en utilisant l'éosinopénie comme moyen de lecture.

On a signalé, dans la littérature, qu'une réaction de Casoni répétée plusieurs fois sur un même individu, pouvait devenir positive à la longue, en dehors de toute échinococcose (Jimenez-Galliano, 30).

Personnellement, nous avons eu l'occasion d'effectuer à plusieurs reprises des réactions intradermiques sur nous-même, pour essayer des antigènes. A la troisième injection, un extrait de membranes proligères a produit une réaction d'irritation qui pouvait peut-être prêter à confusion. Nous avons suivi la courbe de nos éosinophiles circulants et n'avons noté aucune éosinopénie. Ce fut l'objet de notre observation n° 13.

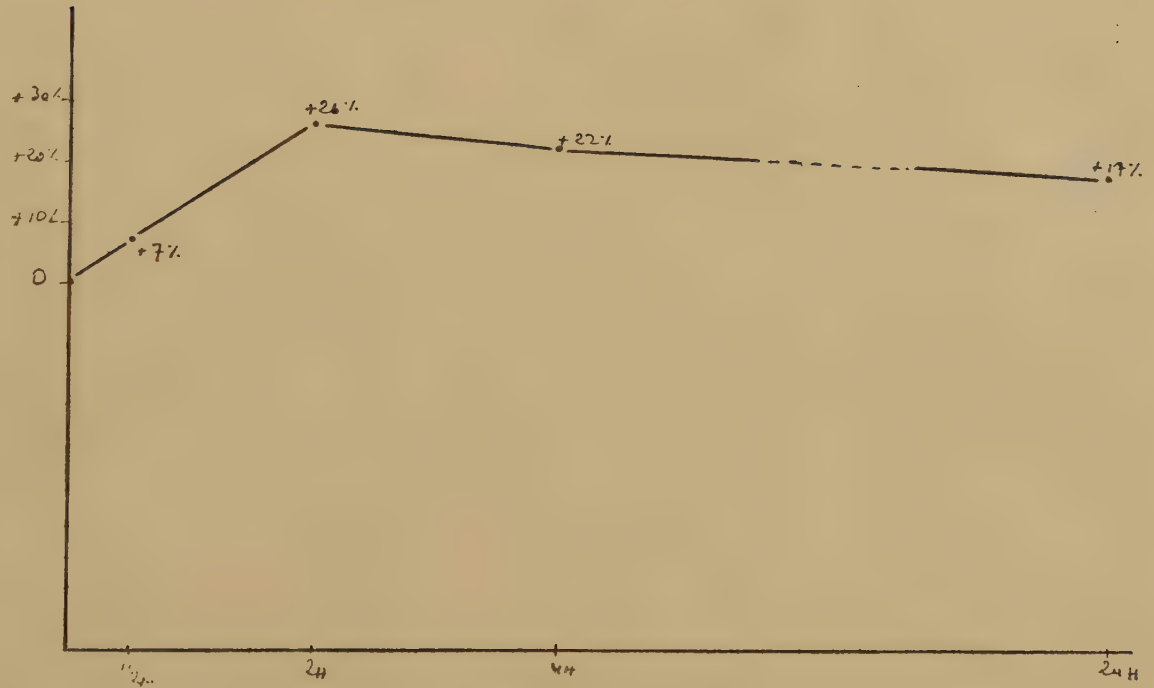
Observation N° 13

1re	numération témoin d'éosinophiles		48
	Réaction intradermique douteuse.		
2e	numération au bout d'une	1/2 heure....	52
3e	—	— 2 heures.....	66
4e	—	— 4 heures.....	62
5e	—	— 24 heures.....	58

(Voir courbe n° 13)

Signalons enfin une cause d'erreur qui doit être assez rare.

Bressot (6 bis) cite le cas d'un porteur de kyste hydatique qui donne une réaction de Casoni négative, à la suite d'une chute qui avait provoqué la rupture de son kyste. Il parle d'une inhibition par intoxication massive, mais, sans doute, a-t-il



courbe n° 13

dû y avoir saturation des anticorps du sujet par la mise en liberté dans son organisme de tous ces produits antigéniques.

Interprétation des résultats

Nous avons vu que l'éosinophilie est un phénomène qui n'est absolument pas spécifique de l'échinococcose. On pourrait penser au premier abord qu'il en est de même de l'éosinopénie. Il n'en est rien.

Cette éosinopénie, en effet, n'a de signification que parce qu'elle est la résultante du choc local antigène-anticorps qui, lui, est spécifique.

En cela, cette éosinopénie est comparable au phénomène d'hémolyse dans une réaction de fixation du compément. C'est la traduction visible et aspécifique d'une réaction antigène-anticorps invisible mais spécifique.

En effet, l'introduction dans le derme d'un antigène provoque, chez un individu sensibilisé à cet antigène, un choc anaphylactique local se traduisant histologiquement par un phénomène d'Arthus.

On sait que ce choc déclanche la mise en liberté d'une substance à propriétés histaminiques, qui se comporte comme un stimulus d'alarme dans la mise en jeu du système hypophysocorticosurrénalien. Or, on sait aussi qu'une des conséquences de cette mise en jeu, est la chute des polynucléaires éosinophiles dans le sang circulant.

Ce phénomène a déjà été vérifié par Pautrizel et Rivasseau (48) chez les moutons douvés, après injection dans la paupière d'antigène à base de Fasciola hepatica. Il a été appliqué ensuite au diagnostic immunologique de l'échinococcose hu-

maine par Pautrizel et Gozman (47). Enfin Joulia, Pautrizel, Texier et De Searbra ont obtenu une éosinopénie analogue chez des syphilitiques traités par une injection intra-musculaire de pénicilline. Dans ce dernier cas, c'était la libération dans l'organisme des produits de destruction du tréponème qui jouait le rôle d'injection déchaînante.

Conclusion

Si un malade présente une chute de ses éosinophiles ciculants d'au moins 50 %, dans les quelques heures qui suivent une injection intradermique d'antigène hydatique, on pourra conclure à la positivité du test, même si le phénomène d'Arthus n'était pas net.

Inversement, une réaction intradermique douteuse devra être considérée comme franchement négative, si elle n'est pas accompagnée d'éosinopénie.

Chapitre III

A LA RECHERCHE DE FRACTIONS ANTIGÉNIQUES SPÉCIFIQUES

Leur application au diagnostic immunologique des helminthiases

Nous avons éliminé de notre mieux les erreurs dues aux techniques défectueuses pour la réaction de fixation du complément, ou à la difficulté de lecture dans le cas des réactions allergiques.

Mais il existe une autre grande cause d'erreur signalée depuis longtemps déjà par Morenas (41 a et c). C'est que toutes sont des réactions de groupe et de ce fait, ne sont pas spécifiques.

Ces réactions croisées rendent de grands services en parasitologie, car elles permettent de faire une classification des différents helminthes d'après leurs parentés immunologiques. Elles permettent aussi de poser le diagnostic d'échinococcose en utilisant un antigène à base de Tænia serialis qu'il est plus facile de se procurer (Pautrizel, 46 a). Mais elles deviennent gênantes quand il s'agit de poser un diagnostic avec certitude, car, inversement, Morenas (41 a et c) et Bressot (6) ont prouvé qu'un porteur de ténia pouvait donner une réaction de Casoni positive avec un antigène hydatique.

Nous avons donc été amenée, à la suite des travaux de Pautrizel et Sarreau (49), à fractionner nos antigènes pour chercher à déterminer quelle en est la fraction spécifique.

Préparation des immunsérums de lapins

Nous avons tout d'abord sensibilisé des lapins avec des extraits totaux de différents helminthes, de façon à obtenir des réactions croisées avec notre antigène hydatique complet.

Nous nous sommes adressée à un cestode voisin du Tænia echinococcus : Moniezia expansa, parasite de l'intestin de mouton, qu'on se procure facilement aux abattoirs. Puis à un Trématode : Fasciola hepatica, qui est la grande douve vivant dans les canalicules biliaires des moutons. Enfin à un nématode : Ascaris suum, parasite du porc.

Tous ces helminthes, recueillis à l'abattoir, faisaient l'objet, après lavage à l'eau physiologique, de la préparation d'extraits totaux dans les mêmes conditions que les membranes proligères de larves de Tænia echinococcus (p. 31).

Les douves, retirées des canalicules biliaires des moutons, étaient lavées à l'eau physiologique, de façon à éliminer toute trace de protéines de mouton, puis rapidement égouttées et congelées en vue de la préparation des antigènes.

Les ascaris, après lavage à l'eau physiologique, étaient incisés. Le liquide cœlomique une fois recueilli, le tube digestif était enlevé, ceci toujours dans le but d'éliminer toute protéine étrangère susceptible de provoquer des réactions non spécifiques ou d'entraîner un pouvoir anti-complémentaire, gênant dans les réactions sérologiques.

Les ascaris, ainsi vidés, étaient congelés à leur tour en armoire frigorifique à — 25°, en vue de préparer des antigènes par les mêmes procédés que pour les membranes proligères et les douves (p. 31).

Les lapins recevaient de la même façon quatre injections préparantes, suivies d'injections de rappel sous 3277 RP. Après ponctions veineuses et centrifugation, les immunsérums servaient à nos réactions croisées.

Vérification des réactions croisées

Nous avons tout d'abord vérifié que ces réactions croisées existaient réellement, et, pour cela, nous avons testé chacun de ces immunsérums avec un antigène hydatique, au moyen de la technique de fixation du complément que nous avons mise au point.

Les sérums de tous les lapins sensibilisés ont donné des résultats positifs, tandis que les sérums de ces mêmes animaux, avant leur sensibilisation, étaient parfaitement négatifs.

Résultats obtenus

Les réactions ont été faites avec du liquide hydatique pour antigène, vis-à-vis d'immunsérums de lapins sensibilisés aux douves, aux moniezias et aux ascaris.

Immunsérum	n° 1,	Anti-douves :	réaction +
—	2,	—	+
—	3,	—	+
—	4,	—	+
—	5,	—	+
—	6,	—	+

Immunsérum n°	7, anti-moniezia	+
—	8, —	+
—	9, anti-ascaris —	+

Témoin non sensibilisé,	n° 1 : réaction	—
—	2	—
—	3	—
—	4	—
—	5	—
—	6	—
—	7	—
—	8	—
—	9	—

Ces résultats prouvent, d'une part, que par injection d'extraits vermineux, on obtient bien l'élaboration d'anticorps chez l'animal d'expérience, et d'autre part qu'il s'agit là de réactions de groupes.

N.B. — Il est à remarquer que deux lapins ont donné des réactions sérologiques positives avant toute injection d'extrait vermineux. Ces lapins ont été sacrifiés, et l'autopsie a révélé la présence de nombreux cysticerques sur leur foie. Il s'agissait donc, là encore, de réactions croisées.

Nous avons donc fractionné nos antigènes pour voir quelle fraction était spécifique.

Technique de fractionnement des antigènes

Les parasites recueillis à l'abattoir une fois lavés, étaient mis à congeler dans l'armoire frigorifique à — 25°, puis broyés finement à plusieurs reprises comme il a été dit pour la préparation des extraits totaux (p. 31).

Cette purée était additionnée d'une partie d'acide phosphotungstique à 10 % et, après mélange au mortier, de deux parties du même acide

à 5 %, de façon à obtenir un mélange final au quart et renfermant 5 % d'acide phosphotungstique.

Le tout était agité deux heures en armoire frigorifique à 4°, dans un appareil à secousses. Les protéines étaient ainsi entièrement précipitées.

Après plusieurs centrifugations rapides à 4.000 tours par minute, entrecoupées de séjours en chambre froide, on recueillait d'une part le culot renfermant les protéines et d'autre part le liquide surnageant avec le complexe glucido-lipido-polypeptidique.

Obtention des protéines

Le culot était lavé très rapidement à l'eau distillée pour éliminer le liquide surnageant mal décanté. Il était ensuite redissous dans le minimum d'eau distillée en amenant à un pH alcalin par addition de soude et en revenant très vite aux environs de la neutralité au moyen d'acide chlorhydrique dilué. Les pH optima variaient suivant l'helminthe auquel on avait affaire.

Cette solution de protéines une fois obtenue, était à nouveau additionnée d'un volume d'acide trichloracétique, et les protéines ainsi purifiées étaient redissoutes par la même technique. Cette opération était répétée trois fois. La solution finale était isotonisée par addition de chlorure de sodium.

Obtention du complexe glucido-lipido-polypeptidique

Le premier liquide surnageant, contenant le complexe glucido-lipido-polypeptidique, était ramené à la neutralité par addition de lessive de

soude diluée, aussitôt après la centrifugation, et mis à dialyser dans des sacs de cellophane 48 heures contre eau courante et 24 heures contre eau distillée en chambre froide, de façon à éliminer les ions qui pourraient être gênants.

La solution limpide obtenue était additionnée de deux volumes d'alcool absolu pour précipiter le complexe qui était ensuite redissous dans l'eau distillée en faisant varier le pH par addition d'acide chorhydrique et retour à la neutralité par la soude.

Cette opération était répétée trois fois pour éliminer toute trace de protéine.

Ces antigènes ont été utilisés pour des réactions de fixation du complément avec des immunsérums de lapins anti-membranes proligères de kystes hydatiques, anti-douves, anti-ascaris et anti-moniezas, comparativement avec les antigènes totaux.

Résultats obtenus dans les réactions croisées avec les extraits totaux employés comme antigènes

I. — Réactions qualitatives

a) *Immunsérums expérimentaux de lapins.*

— Liquide hydatique (comme antigène)

Sérums immuns :

+	I.S. anti-membranes hydatiques	++++
+	I.S. anti-moniezia	++++
+	I.S. anti-douves	++++
+	I.S. anti-ascaris	++++

— Extrait total de membranes hydatiques (antigène)

Sérums immuns :

+	I.S. anti-membranes hydatiques	++++
+	I.S. anti-moniezia	++++
+	I.S. anti-douves	++++
+	I.S. anti-ascaris	++++

— Extrait total de douves (antigène)

Sérums immuns :

+	I.S. anti-membranes hydatiques	++++
+	I.S. anti-moniezia (réaction non faite)	
+	I.S. anti-douves	++++
+	I.S. anti-ascaris	++++

— Extrait total d'ascaris (antigène)

Sérums immuns :

+	I.S. anti-membranes hydatiques	++++
+	I.S. anti-moniezia (réaction non faite)	
+	I.S. anti-douves	++++
+	I.S. anti-ascaris	++++

— Liquide cœlomique d'ascaris (antigène)

Sérums immuns :

+	I.S. anti-membranes hydatiques	++++
+	I.S. anti-moniezia (réaction non faite)	
+	I.S. anti-douves	++++
+	I.S. anti-ascaris	++++

Il y a donc réaction croisée dans les deux sens entre ces différents helminthes, quand on utilise pour antigènes les extraits totaux, en employant des réactions qualitatives.

b) *Immunsérums humains.*

Nous avons testé parallèlement des sérums humains de différents porteurs d'helminthes, en utilisant pour antigène le liquide hydatique.

Nous nous sommes adressée à trois porteurs de filaires, un porteur de schistosomes dont l'infestation était prouvée par la présence d'œufs dans les selles, et un porteur de ténia.

Voici les résultats obtenus :

Sérum n°	1	(porteur de filaires)	+
—	2	—	+
—	3	—	+
—	4	(porteur de schistosomes)	±
—	5	(porteur de T. saginata)	—

Interprétation

Le sérum du malade parasité par Schistosomum mansoni était douteux mais a donné une réaction nettement positive avec un antigène à base de Fasciola hepatica, alors qu'un témoin négatif ne donnait aucune réaction, avec le liquide hydatique, ni avec l'extrait de douves. Il y a donc, là encore, réaction croisée.

Le sérum de porteur de ténia a donné une réaction franchement négative, en dépit de ce qu'affirmait Morenas (41 a). Mais, d'une part, nous ne nous trouvions peut-être pas à une période où le taux des anticorps est suffisant, et, d'autre part, Culbertson (11 ter) a fait remarquer que les parasites qui vivent dans la lumière intestinale sollicitent seulement la formation de traces d'anticorps, tandis que ceux qui vivent dans le muscle, ou ceux qui passent dans le sang circulant, entraînent la formation d'une beaucoup plus grande quantité d'anticorps.

c) *Réactions allergiques sur cobayes.*

Nous avons d'autre part vérifié qu'il y avait des réactions de groupe en pratiquant des tests allergiques sur cobayes.

Principe de ces réactions. — On immunise passivement des cobayes par injection intrapéritonéale de deux centicubes d'immunsérum de lapin. On opère de préférence sur des animaux à peau blanche. Quarante-huit heures après, les cobayes sont prêts.

On fait alors une injection intracardiaque de deux centicubes d'une solution au tiers de bleu d'Evans, et tout de suite après, une injection intradermique d'histamine qui servira de témoin positif, et une d'eau physiologique comme témoin négatif.

L'histamine provoque une modification de la perméabilité capillaire qui se traduit par l'apparition d'une tache bleue au point d'injection.

Si, au lieu d'histamine, on injecte au cobaye l'antigène contre lequel il a été préparé, il y aura production d'un petit choc local antigène-anticorps, et libération d'une substance à propriétés histaminiques.

Une réaction positive sera donc signée par une papule bleue analogue à celle que donnait l'injection d'histamine.

Nous avons ainsi préparé des cobayes anti-membranes hydatiques et anti-douves.

Résultats obtenus.

Cobaye n° 1, anti-membranes hydatiques :

+ extrait de membranes hydatiques	+++
+ extrait de douves	+++
+ extrait de moniezias	++
+ liquide hydatique	++
témoin eau physiologique	—
témoin histamine	++++

Cobaye n° 2, anti-membranes hydatiques :

+ extrait de membranes hydatiques	++++
+ extrait de douves	+++
+ extrait de moniezias	++
+ liquide hydatique	++
témoin eau physiologique	—
témoin histamine	++++

Cobaye n° 3, anti-douves :

+ extrait de douves	++++
+ extrait de membranes hydatiques	++
+ extrait de moniezias	++
+ liquide hydatique (réaction non faite).	
témoin eau physiologique	—
témoin histamine	++++

Cobaye n° 4, anti-douves :

+ extrait de douves	+++
+ extrait de membranes hydatiques	+++
+ extrait de moniezias	++
+ liquide hydatique (réaction non faite).	
témoin eau physiologique	—
témoin histamine	++++

Ici encore, nous voyons que les réactions croisées marchent dans les deux sens.

d) *Réactions allergiques sur lapins infestés spontanément.*

Enfin nous avons obtenu aussi des réactions allergiques croisées sur des lapins infestés spontanément.

Quatre lapins ont fait un choc anaphylactique mortel à la suite d'une première injection d'extrait vermineux. Deux d'entre eux avaient reçu 5 cc. d'extrait filtré de membranes hydatiques par voie intraveineuse, et 5 cc. du même extrait non filtré,

par voie intrapéritonéale. Les deux autres avaient été traités de la même façon, mais avec un antigène de douves.

L'autopsie a révélé qu'ils étaient tous quatre porteurs de cysticerques.

c) *Réactions allergiques sur lapins sensibilisés expérimentalement.*

Deux lapins préparés avec des extraits de douves, ont fait chacun, à la suite d'une injection intraveineuse de 5 cc. d'extrait filtré de membranes hydatiques, un choc anaphylactique brutal, auquel l'un des deux n'a pas tardé à succomber, bien que tous deux aient été sous anti-histaminique.

Conclusions

Parmi les réactions antigène-anticorps, sérologiques ou allergiques, dans les helminthiases, il existe donc bien des réactions de groupes.

II. — Réactions quantitatives

Nous avons cherché à voir si on ne pourrait pas faire une discrimination et arriver à une certaine spécificité d'espèce au moyen de méthodes quantitatives.

L'étude a porté sur les réactions croisées entre douve et ténia échinocoque.

Nous avons tout d'abord étudié le couple antigène hydatique, immunsérum anti-douves, en utilisant différentes dilutions d'antigène, depuis 1/40 jusqu'à 1/1.280. L'immunsérum était essayé jusqu'à la dilution la plus forte qui donne encore une réaction positive avec l'antigène à 1/40.

Résultats obtenus

1) *Couple antigène hydatique. Immunsérum anti-douves*

(antigène) Ag. total hydatique	DILUTIONS DE L'IMMUNSERUM ANTI-DOUVES						
	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
1/40.....	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−
1/80.....	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−
1/160.....	+	+	+	+	+	+	+−	−	−	−
1/320.....	+	+	+	+	+	+−	−	−	−	−
1/640.....	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−
1/1280.....	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−

2) *Coupple antigène de douve. Immunsérum anti-douves*

(antigène) Ag. total douves	DILUTIONS DE L'IMMUNSERUM ANTI-DOUVES										
	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048
1/40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1/80	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1/160	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1/320	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1/640	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1/1280	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1/2560	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1/5120	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1/10240	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1/20480	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Avec l'antigène hydatique 1/40, la réaction est encore positive pour l'immunsérum 1/256 et négative à partir de 1/512.

Avec l'antigène 1/1280, l'immunsérum est positif jusqu'à 1/32.

Voyons maintenant les résultats obtenus avec le couple homologue.

Le même immunsérum anti-douves est testé, mais cette fois avec l'antigène à base de douves correspondant.

(Voir le Tableau de la page 87)

Avec le couple homologue, nous voyons que la réaction est encore positive avec un antigène 1/320, pour un immunsérum 1/2048, ou avec un antigène 1/20480, pour un immunsérum 1/4.

Il y a donc déjà une différence quantitative avec le couple hétérologue. Mais la production d'anticorps varie trop d'un individu à l'autre pour que l'on puisse, par ce procédé, déterminer la spécificité d'une réaction.

C'est la raison pour laquelle il a fallu fractionner les antigènes.

Sur chaque immunsérum, nous avons effectué des réactions de fixation du complément (voir technique, p. 33) en utilisant pour antigène les différentes fractions de membranes hydatiques, de douves et d'ascaris.

Voici les résultats que nous avons obtenus :

Résultats obtenus dans les réactions avec antigènes fractionnés

I) Antigènes a base de Tænia échinococcus

1) *Complexe glucido-lipido-polypeptidique*

a) *Réactions qualitatives.*

+	Immunserum n° 1, anti-membranes hydatiques		++++
—	2,	—	++++
—	3, anti-liquide hydatique		+
—	4,	—	±
—	5, anti-douves		—
—	6,	—	±
—	7, anti-moniezia	—	—
—	8,	—	±

Témoin n° 1 (avant la sensibilisation)		—
—	2	—
—	3	—
—	4	—
—	5	—
—	6	—
—	7	—
—	8	—

Ces résultats sont absolument comparables à ceux que l'on obtenait en utilisant le liquide hydatique avec les immunsérums anti-membranes et anti-liquide hydatiques. C'est ce qui nous a déterminée à essayer cet antigène fractionné dans nos tests intradermiques, après avoir vérifié que cet antigène donnait, avec le sérum du malade, la même réaction positive que celle obtenue avec le liquide hydatique.

Nous avons effectué le test sur un malade récemment opéré d'un kyste hydatique du poumon, et avons enregistré une chute des polynucléaires éosinophiles circulants de 55 %, en deux heures, chute comparable à celle que donnaient les injec-

tions intradermiques de liquide hydatique (observation n° 6, p. 58).

Un sujet sain a été testé parallèlement, et l'injection du complexe glucido-lipido-polypeptidique n'a pas provoqué d'éosinopénie.

b) *Réactions quantitatives.*

On convient d'appeler 1/1 la solution du complexe glucido-lipido-polypeptidique obtenue lors du fractionnement et dont l'extrait sec est de 2,5 mmg par cc.

La réaction a été effectuée avec l'antigène 1/1 et différentes dilutions d'immunsérums anti-hydatique, anti-douves et anti-moniezias.

Résultats obtenus

Immun-sérums	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
anti-membranes hydatiques	+	+	+	+	+	+	±	—
anti-membranes hydatiques	+	+	+	+	+	+	—	—
anti-douves	±	±	±	±	—	—	—	—
anti-douves	±	—	—	—	—	—	—	—
anti-moniezias	±	—	—	—	—	—	—	—
anti-moniezias	±	±	—	—	—	—	—	—

La fraction glucido-lipido-polypeptidique des membranes proligères hydatiques semble donc bien être plus spécifique de l'espèce Tænia echinococcus que ne l'était l'extrait total de membranes proligères.

C'est d'ailleurs ce qu'avaient fait remarquer Pautrizel et Sarreau (49) qui, en essayant de pratiquer des intradermoréactions de Casoni avec un comlexe polyholosidique, ont obtenu des résultats encourageants.

Campbell (9) et Wilhelmi (65) ont montré de leur côté que, chez les helminthes, la spécificité antigénique d'espèce était supportée par les polyholosides, tandis que les protides et les lipides semblaient responsables des réactions de groupes.

2) *Protéines de membranes proligères*

a) *Réactions qualitatives.*

Nous avons testé de la même façon deux immunsérums anti-membranes hydatiques et deux immunsérums anti-douves avec cet antigène protéinique. Les résultats ont été les suivants :

Résultats obtenus

+ Immunsérum n° 1,	anti-membranes hydatiques		++++
— 2	—		++++
— 3,	anti-douves		++++
— 4,	—		++++

Les sérums des quatre lapins ont été testés avec le même antigène, avant que les animaux n'aient été sensibilisés et les quatre témoins ont été négatifs.

Témoin n° 1	(avant sensibilisation)	—
— 2		—
— 3		—
— 4		—

Les protéines donnent donc avec un immunsérum de lapin anti-douves des réactions positives, comme le faisait l'extrait total de membranes hydatiques et il semble bien, comme le faisait remarquer Campbell (9), que ces fractions protéiniques soient responsables des réactions de groupes.

Nous avons alors cherché à savoir si la réaction marchait dans les deux sens et avons, pour cela, fractionné douves et ascaris par les mêmes procédés que pour les membranes hydatiques. Les seules différences résidaient dans les pH optima de dissolution qui varient selon les helminthes et ne sont déterminés que par tâtonnements.

II) Antigènes a base de douves

1) *Complexe glucido-lipido-polypeptidique*

a) *Réactions qualitatives.*

Cet antigène a servi à tester deux immunsérums homologues : anti-douves, et deux immunsérums hétérologues : anti-membranes hydatiques.

+ Immunsérum	n° 1,	anti-douves	+++
—	2,	—	+++
—	3,	anti-membranes hydatiques	+
—	4,	—	±
Témoin	n° 1	(avant sensibilisation)	—
—	2		—
—	3		—
—	4		—

La spécificité semble donc moins étroite dans ce sens, mais la différence est nette tout de même entre les réactions obtenues avec les couples homologues ou hétérologues.

b) *Réactions quantitatives.*

Là aussi, deux couples ont été étudiés en diluant l'antigène jusqu'à 1/512 et en opérant sur des immunsérums purs, 1/2 et 1/4.

Résultats obtenus

(antigène) Ag. de douves	Immunsérum anti-douves			Immunsérum anti-hydatique		
	1/1	1/2	1/4	1/1	1/2	1/4
1/1	+	+	+	±	±	±
1/2	+	+	+	±	—	—
1/4	+	+	+	—	—	—
1/8	+	+	+	—	—	—
1/16	+	+	+	—	—	—
1/32	+	+	+	—	—	—
1/64	+	+	+	—	—	—
1/128	+	+	±	—	—	—
1/256	±	—	—	—	—	—
1/512	—	—	—	—	—	—

Ici aussi le complexe glucido-lipido-polypeptidique semble plus spécifique que l'extrait total de douves.

2) *Protéines de douves*

Nous avons cherché à voir si, ici aussi, les protéines étaient responsables de la réaction croisée, et avons pour cela effectué des réactions de fixation du complément, avec cet antigène protéinique de douves, sur deux immunsérums anti-douves et deux anti-membranes hydatiques.

Les résultats obtenus n'ont pas été aussi convaincants.

Résultats obtenus

+ Immunsérum n°	1,	anti-douves	+++
—	2,	—	++++
—	3,	anti-membranes hydatiques	+
—	4,	—	+

Témoin n°	1	(avant sensibilisation)	—
—	2		—
—	3		—
—	4		—

L'extrait protéinique semblerait, dans ce cas, presque aussi spécifique que le complexe glucido-lipido-polypeptidique.

III) Antigènes a base d'ascaris

1) *Complexe glucido-lipido-polypeptidique*

Six sérums ont été testés, deux anti-ascaris, deux anti-membranes hydatiques, et deux anti-douves.

Résultats obtenus

+ Immunsérum n°	1, anti-ascaris	++++
—	2, —	++++
—	3, anti-membranes hydatiques	±
—	4, —	±
—	5, anti-douves	+++
—	6, —	++

Témoin n°	1 (avant sensibilisation)	—
—	2	—
—	3	—
—	4	—
—	5	—
—	6	—

Dans ce cas, si le complexe glucido-lipido-polypeptidique d'ascaris semble spécifique vis-à-vis du ténia échinocoque, il paraît, au contraire, responsable des réactions croisées avec les douves.

Nous allons voir si, d'après les résultats obtenus avec les protéines d'ascaris, cette impression se confirme.

2) *Protéines d'ascaris*

Les mêmes immunsérums ont été testés, toujours par notre technique de fixation du complément, avec, cette fois, les protéines pour antigène.

Résultats obtenus

+ Immunsérum n°	1, anti-ascaris	++++
—	2, —	++++
—	3, anti-membranes hydatiques	++
—	4, —	+++
—	5, anti-douves	+
—	6, —	±

Ce sont encore les protéines qui semblent responsables des réactions de groupes entre ascaris

et ténia échinocoque. Par contre, en ce qui concerne les douves, elles sembleraient, au contraire, plus spécifiques que la fraction glucido-lipido-polypeptidique.

Conclusions

Si les réactions effectuées avec des antigènes helminthiques totaux ne sont que des réactions de groupes, on peut arriver à une certaine spécificité d'espèce en fractionnant les extraits vermineux.

Dans le cas particulier de l'échinococcose, c'est la fraction glucido-lipido-polypeptidique qui semble supporter la spécificité d'espèce.

CONCLUSION

Les réactions immunologiques peuvent rendre de grands services dans le diagnostic des helminthiases, à condition d'être pratiquées correctement.

Dans le cas particulier de l'échinococcose, on peut faire appel aux réactions sérologiques ou allergiques.

La précipitoréaction avec substances adjuvantes semble donner des espoirs, mais demande à être plus approfondie.

Telle que nous l'avons utilisée, la technique de fixation du complément, bénéficiant des progrès de la sérologie moderne, paraît être satisfaisante.

En la complétant par le test d'éosinopénie consécutive à la réaction allergique de Casoni, nous avons obtenu des résultats encourageants.

L'existence de réactions croisées a l'avantage de permettre l'utilisation d'antigènes à base d'helminthes voisins, pour poser un diagnostic immunologique d'échinococcose. Par contre, ces réactions croisées peuvent devenir gênantes, car elles diminuent la spécificité d'espèce. Si l'on veut alors obvier à cet inconvénient, on doit avoir recours aux antigènes fractionnés.

En ce qui concerne l'échinococcose, l'isolement du complexe glucido-lipido-polypeptidique et son utilisation, nous ont permis d'obtenir des réactions immunologiques plus spécifiques.

Vu : *Le Doyen*,
PORTMANN.

Vu : *Le Président*,
R. SIGALAS.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 6 Février 1953

Le Recteur de l'Académie de Bordeaux,
DELAGE.

BIBLIOGRAPHIE

1 — Bassigalupo (J.). — C.R. Soc. Biol. 1923-88-347.

2 — Blumenthal (G.). — Handbuch der Path. Mikro-org. 1929-27-1.

3 — Boidin (L.) et Laroche (G.). — Presse Méd. 1910-36-329.

4 — Bonelli (P.). — Gior. di batteriol. e immunol. 1934-12-681.

5 — Botteri (J.-H.). — Wiener. Klin. Wochenschr. 1922-35-473.

6 — Bressot (E.). — Presse Méd. 1932-11-25-478.

6 *bis* — Brisou (J.). — Bull. Soc. Path. exot. 1946-39-5-193.

7 — Burnet (E.), Caillon (L.) et Brun (G.). — Arch. Inst. Past. Tunis 1927-16-29.

8 — Callot (J.). — Thèse méd. Paris 1934.

9 — Campbell (D.-H.). — The Journ. of Parasit 1937-23-23.

10 — Cantini (G.). — Riforma med. 1929-45-1586.

11 — Casoni (C.). — Folia clin. chim. e microsc. 1912-4-15.

11 *bis* — Chung et T'Ung. — Tr. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg. 1939-32-697.

11 *ter* — Culbertson (J.T.). — Arch. of Path. 1938-25-85.

12 — Dennis (E.-W.. — J. Parasit. 1927-23-62.

13 — Derobert (L.). — L'éosinophilie générale et locale Ballière éd. Paris 1942.

14 — Deush (G.). — Deutsch med. Wochenschr. 1926-52-875.

15 — Dève (F.). — Clinique et Laboratoire, 1926-207.

16 — Eristavi (H.). — Nach d. trop. med. 1929-2.

17 — Fairley (N.-H.). — J. Helminthol. 1923-2-181.

18 — Fairley (N.-H.) et Kellaway (C.H.). — Australian and New Zeeland J. surg. 1933-2-336.

19 — Fairley (N.-H.). et Williams. — M. J. Australia, 1927-2-811.

20 — Fernandez et Ithurrat (F.). — C.R. Soc. Biol. 1923-88-348.

21 — Fisahn (H.). — Wirchows Archiv. 1942-2-471.
22 — Fleig (C.) et Lisbonne (M.). — Presse Méd. 1909-93-832.
23 — Gasbarrini (A.). — Policlinico. 1919-26-441.
24 — Gernez (C.-H.). — Echo méd. du Nord. 1926-6-370.
25 — Ghedini (G.). — Cron. di clin. med. di Geneva. 1907-13-134.
26 — Goodale et Krischner — Am. Journ. trop. Med. 1930-10-71.
27 — Hoder (W.). — Fortsch d. med. 1933-51-959.
28 — Ithurrat (P.-F.). — C.R. Soc. Biol. 1923-88-5-348.
29 — Ithurrat (P.-F.) et Calcagno (N.-B.). Presse Méd. 1923-11-7-71-765.
30 — Jimenez-Galliano. — Thèse. Paris 1939.
31 — Joulia (P.), Pautrizel (R.), Texier (L.) et De Searbra. — Bull. Soc. Dermat. et Syph., 1951.
32 — Joyeux (C.). — Arch. de Méd. gén. et Colon. 1932-1-277.
33 — Kellaway (C.-H.) et Fairley (N.-H.). — Med. J. of Australia. 1932-19-340.
34 — Lavier (G.). — Presse Méd. 1945-40-535.
35 — Lemaire et Jahier. — Jour. Méd. Chir. Afr. du Nord. 1924-18-100.
36 — Lemaire et Thiodet. — Arch.Inst.Past. Algérie. 1926-64.
37 — Longo (B.-W.). — Policlinico sez. med. 1932-39-202.
38 — Luridiana. — Policlinico sez. prat. 1920-27-17.
39 — Manassei (O.). — Rif. Med. 1923-34-16.
40 — Mogena (H.-G.).— Arch. de Med.chir. y Esp. 1926-4-17.
41 a — Morenas (L.). — C.R. Soc. Biol. 1932-60-321.
41 b — Morenas (L.). — Arch. Mal. Appar. Diagest. 1926-16-1035.
41 c — Morenas (L.). — C.R. Soc. Biol. 1929-102-786.
42 — Morenas (L.) et Lagrèze. — Jour. méd. Lyon. 1932-4-207.
43 — Nunez Outeïrino (J) et Lopez Calvelo (M.). — Presse Médicale. 1933-87-1684.
44 — Nunez Outeïrino (J.). — Ann. de Méd. 1935-38-493.
45 — Patterson (S.-W.) et Williams (F.-E.). — Jour. Path. and Bact. 1924-27-1.
46 a — Pautrizel (R.). — Bull. Soc. Pharm. Bordeaux 1948-86.
46 b — Pautrizel (R.). — Thèse Méd., Bordeaux 1948.
47 — Pautrizel (R.) et Gosman (T.). — Ann. Pharm. 1951-IX-9-622.

48 — Pautrizel (R.), Rivasseau (D.) et Rivasseau (J.). — C.R. Soc. Biol. 1951.
49 — Pautrizel (R.) et Sarreau (C.). — C.R. Soc. Biol. 1947-141-1061.
50 — Pontano (V.). — Policlinico. 1920.
51 — Puntoni (V.). — Boll. delle Sc. med. di Bologna, 1910--10-123. 1910-10-245.
52 — Rivasseau (J.). — Thèse Méd. Bordeaux 1951.
53 — Russo. — Rivisto osped. 1939-29-11.
54 — Sabrazes (J.). — Gaz. hebd. Sciences méd. Bordeaux 1923-24-283.
55 — Sarreau (C.). — Thèse Méd. Bordeaux 1947.
56 — Serra. — Policlinico sez. chir. 1921-28-102.
57 — Servantie (I.). — Jour. méd. Bordeaux 1923-6-203.
59 — Simantiris (D.). — Thèse Montpellier 1927-28.
60 — Trawinski (A.). — Ann. Parasit. 1946-21-3-183.
61 — Urbain (A.). — C.R. Soc. Biol. 1936-122-999.
62 — Weinberg (M.). — Ann. Inst. Past. 1909-23-472.
63 — Weinberg (M.) et Parvu. — Presse Méd. 1906-103-839.
64 — Welsch (D.-A.) et Chapman (H.-G.). — The Lancet, 1909-174-4419.
65 — Wilhelmi (R.-W). — The biol. bull. of the marine Hop. Laboratory, 1940.
71 — Zontschew (W.-T.). — Arch. f. Schiffs und Tropen Hyg. 1931-25-365.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION 13

CHAPITRE PREMIER. — HISTORIQUE 15

Eosinophilie 18

Précipitoréaction 19

Fixation du complément 21

CHAPITRE II. — RECHERCHES EXPÉRIMENTALES 27

Eléments de la réaction 27

Les anticorps 27

Les antigènes 30

Essais de techniques 32

Fixation du complément 32

Précipitoréaction 38

Réactions allergiques 44

CHAPITRE III. — A LA RECHERCHE LE FRACTIONS ANTIGÉNIQUES SPÉCIFIQUES. APPLICATION AU DIAGNOSTIC DES HELMINTHIASES 75

Préparation des immunsérums de lapins 76

Technique de fractionnement des antigènes 78

Résultats obtenus dans les réactions croisées 80

Réactions qualitatives 80

Immunsérums expérimentaux de lapins . . 80

Immunsérums humains 81

Réactions allergiques sur cobayes 82

Réactions allergiques dur lapins infestés spontanément 84
Réactions allergiques sur lapins sensibilisés expérimentalement 85
Réactions quantitatives 85

Résultats obtenus dans les réactions avec antigènes fractionnés 89
Antigènes hydatiques 89
Antigènes à base de douves 92
Antigènes à base d'ascaris 94

CONCLUSION 97

BIBLIOGRAPHIE 99